

GABRIEL NUNES DE SALES CORREA

**INFECÇÃO POR *Rickettsia rickettsii* EM CÃES, EQUÍDEOS E  
CARRAPATOS DE ÁREAS DE OCORRÊNCIA DE FEBRE MACULOSA  
BRASILEIRA NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

**VITÓRIA**

**2015**

GABRIEL NUNES DE SALES CORREA

**INFECÇÃO POR *Rickettsia rickettsii* EM CÃES, EQUÍDEOS E  
CARRAPATOS DE ÁREAS DE OCORRÊNCIA DE FEBRE MACULOSA  
BRASILEIRA NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas.

Orientador: Prof. Crispim Cerutti Júnior

Área de concentração: Epidemiologia das Doenças Infecciosas

**VITÓRIA**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

Correa, Gabriel Nunes de Sales, 1988-

C824i      Infecção por *Rickettsia rickettsii* em cães, equídeos e carrapatos de áreas de ocorrência de febre maculosa brasileira na região central do estado do Espírito Santo / Gabriel Nunes de Sales Correa – 2015.

75 f. : il.

Orientador: Crispim Cerutti Júnior.

Coorientador: Cláudio Lísias Mafra de Siqueira.

Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Febre maculosa brasileira. 2. Ácaros e carrapatos. 3. Especificidade de hospedeiro. 4. Epidemiologia. 5. Meio silvestre. I. Cerutti Júnior, Crispim. II. Siqueira, Cláudio Lísias Mafra de. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 61

---




UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS


PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

O mestrando GABRIEL NUNES DE SALES CORRÊA apresentou a dissertação intitulada “Infecção Por *Rickettsia rickettsi* em Cães, Equídeos e Carrapatos em Áreas de Ocorrência de Febre Maculosa Brasileira na Região Central do Estado do Espírito Santo” em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora decidiu ☒ **aprovar** ( ) **reprovar** a dissertação para habilitar o médico veterinário GABRIEL NUNES DE SALES CORRÊA a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória, ES, 26 de novembro de 2015

  
Prof. Dr. Cláudio Lísias Mafra de Siqueira  
(Membro Externo)

  
Prof. Dr. Gustavo Rocha Leite  
(Membro Externo)

  
Prof. Dr. Crispim Cerutti Jr.  
(Orientador)



## **DEDICATÓRIA**

À minha esposa

Flávia Dalto Nunes de Sales

À minha filha

Luiza Dalto Nunes de Sales

Aos meus pais

Francisco de Sales Correa

Luiza Helena Nunes Vieira Correa

Aos meus sogros

Elseir Ferreira do Nascimento

Janete Maria Dalto

Na ausência deles, não haveria sentido.

## AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela sabedoria, paciência e força nos momentos de cansaço;
- A meus pais, pelo dom da vida;
- À minha avó, Zalda Machado, por ter possibilitado que eu me formasse Médico Veterinário
- À minha melhor amiga e companheira Flávia Dalto Nunes de Sales, por nunca ter desacreditado e ter me incentivado até o fim, sempre com muito amor e exigência, motivando-me sempre que necessário;
- À minha filha que, mesmo sem saber falar direito, me inspirava à vitória, apenas com um simples sorriso, cada vez que o cansaço batia;
- Aos meus sogros e minha cunhada, Fernanda Dalto, que sempre acreditaram em mim;
- Ao meu orientador Dr. Crispim Cerutti Júnior que, mesmo nos momentos de dificuldade, não desistiu em momento algum de auxiliar-me, sempre perfeccionista e exigente – o que ajudou muito, pois hoje, devo minha perspicácia e perfeccionismo a ele. Muito obrigado;
- Ao meu amigo e ex-professor Gilton Luís Almada já que minha trajetória na Saúde Pública não seria nada sem seus ensinamentos;
- Ao Dr. Gilberto Salles Gazêta que me inspirou a decisão de pesquisar sobre a Febre Maculosa Brasileira;
- Ao Dr. Nicolau Maués Serra-Freira (*in memoriam*) que, sempre com muita calma e um conhecimento exímio, forneceu importantes informações a cerca de taxonomia e acarologia;
- Ao Dr. Cláudio Lísias Mafra de Siqueira e ao Dr. Carlos Montandon pelo apoio e ajuda na realização da Reação de Imunofluorescência Indireta;

- Aos médicos veterinários Augusto Marchon Zago – pelos ensinamentos na área da Saúde Pública –, e Marcus Antônio, pelo auxílio durante a pesquisa. Ainda, ao motorista Edmilson que, cordialmente, guiou a equipe pelo interior do estado do Espírito Santo.
- Aos meus ex-professores Kryshna de Oliveira, Tayse Domingues, Fernanda Toledo, Gilberto Marcos Júnior, Fernando Tobias, Graziella Barioni, Fábio Maia, Blima Fux, Daniel de Oliveira, Aloísio Falqueto, Reynaldo Dietze, Fausto Edmundo Pereira, Moisés Palaci, (tenho de ver os sobrenomes). Seus ensinamentos moldaram meu perfil profissional;
- Às Secretarias Municipais de Saúde dos municípios de São Gabriel da Palha, Vila Valério, Colatina, Pancas, Mantenópolis, São Roque do Canaã, Baixo Guandu e São Domingos do Norte;
- À Secretaria Estadual de Saúde do estado do Espírito Santo;
- Aos meus amigos das bandas Stinger e New Jersey que, nos momentos de estresse, forneceram uma boa válvula de escape com muito hard rock.
- Aos estagiários do curso de Medicina Veterinária da UVV e da Unesc, respectivamente, Jackeline Rossman e Sérgio Filho, e Sayonara do Rosário pelo auxílio nas coletas de carrapatos e amostras de sangue.

*“Só existem 2 dias no ano em que não podemos fazer nada. Um se chama ontem e o outro  
amanhã.” (Dalai Lama)*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Etiologia .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Particularidades dos Principais Vetores da FMB no Brasil .....</b>	<b>27</b>
2.2.1. Complexo <i>Amblyomma cajennense</i> .....	27
2.2.2. <i>Amblyomma aureolatum</i> .....	29
2.2.3. <i>Rhipicephallus sanguineus</i> .....	30
2.2.4. Outras Espécies de <i>Amblyomma</i> de Importância Epidemiológica no Brasil .....	32
<b>2.3. Epidemiologia .....</b>	<b>33</b>
2.3.1. <i>Rickettsia rickettsii</i> e Riquetsioses ao Redor do Mundo .....	32
2.3.2. A Febre Maculosa no Brasil .....	34
2.3.3. A Febre Maculosa Brasileira no Espírito Santo .....	36
<b>3. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>37</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>37</b>
4.1. Objetivo Geral .....	37
4.2. Objetivos específicos .....	38
<b>5. MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
5.1. Área de estudo .....	38
5.2. Coletas .....	39
5.2.1. Cálculo Amostral .....	40
5.3. Pesquisa das Riquetsias nos Ectoparasitos .....	41
5.4. Inquérito Sorológico de Hospedeiros Vertebrados .....	42
5.5. Análise dos Dados .....	43
5.6. Considerações Éticas .....	44
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
6.1. Diagnóstico Situacional das Áreas de Coleta .....	44
6.2. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) nos Carrapatos ....	44
6.3. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nos Soros dos Hospedeiros Animais .....	47

<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>69</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### A) Figuras

**Figura 1.** Mapa adaptado de Nava et al. (2014) mostrando a distribuição, desde a América do Sul até a América do Norte, do complexo *Amblyomma cajennense* ..... 70

**Figura 2.** Mapa do estado do Espírito Santo ..... 71

**Figura 3.** Mapa da bacia hidrográfica do estado do Espírito Santo .....72

**Figura 4.** Ao todo, foram 19 pontos de coleta (Baixo Guandu: dois; Colatina: sete; Mantenópolis: um; Pancas: dois; São Domingos do Norte: dois; São Gabriel da Palha: um; São Roque do Canaã: dois; Vila Valério: dois). Cada um deles, relacionam-se a locais prováveis de infecção (LPI), com exceção de São Domingos do Norte (área-controle) ..... 73

**Figura 5.** Coleta de carrapatos em equídeo em Baixo Guandu ..... 74

**Figura 6.** Aspecto peridomiciliar da residência de um paciente positivo para Febre Maculosa Brasileira, no município de Colatina, localizada no perímetro urbano ..... 74

**Figura 7.** Aspecto da área de investigação de um caso suspeito de Febre Maculosa Brasileira no interior do município de Vila Valério (Córrego Areia) ..... 75

**Figura 8.** Aspecto do peridomicílio em Mantenópolis de um caso positivo para Febre Maculosa Brasileira ..... 75

**Figura 9.** Aspecto do peridomicílio de uma residência pertencente a um paciente positivo para Febre Maculosa Brasileira, localizado no município de São Gabriel da Palha ..... 76

**Figura 10.** Aspecto de São Roque do Canaã nas imediações da residência de um paciente positivo para Febre Maculosa Brasileira ..... 76

**Figura 11.** Área onde os equídeos tinham contato com capivaras, em São Domingos do Norte (área-controle) ..... 77

**Figura 12.** Indício da presença de capivaras próximo ao lago em São Domingos do Norte (área-controle) ..... 77

**Figura 13.** Comunidade de carroceiros em Baixo Guandu ..... 78

**Figura 14.** Intensa infestação no equipamento de proteção individual, por larvas de *Amblyomma sculptum* em São Domingos do Norte próximo ao lago ..... 78

**Figura 15.** Atividade intensa de larvas de *Amblyomma sp.* em fase não parasitária durante coleta em Mantenópolis ..... 79

**Figura 16.** *Amblyomma sculptum* ..... 79

**Figura 17.** Criadouro construído às margens do rio Guandu para captura e criação de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) ..... 80



## **B) Tabelas**

**Tabela 1.** Localização geografia, obtida por meio de GPS, dos pontos de coleta..... 39

**Tabela 2.** Distribuição das espécies de hospedeiros amplificadores por área de coleta / município ..... 46

**Tabela 3.** Distribuição das espécies de carrapatos por área de coleta / município ..... 48

## LISTA DE ABREVIATURAS

FMB = Febre Maculosa Brasileira

FMMR = Febre Maculosa das Montanhas Rochosas

SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação

PDR = Plano Diretor de Regionalização

ES = Espírito Santo

GA = Grupo Ancestral

GT = Grupo Tifo

GFM = Grupo da Febre Maculosa

EUA = Estados Unidos da América

PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase

RIFI: Reação de Imuno-fluorescência Indireta

SBY: Síndrome Baggio-Yoshinari

SUCEN = Superintendência de Controle de Endemias

IOC = Instituto Oswaldo Cruz

Fiocruz = Fundação Instituto Oswaldo Cruz

LPI = Local Provável de Infecção

Lacen = Laboratório Central de Saúde Pública

MG = Minas Gerais

pb = pares de base

Anti-IgG = anti-imunoglobulina G

UFES = Universidade Federal do Espírito Santo

ESF = Estratégia de Saúde da Família

PNCD = Programa Nacional de Combate à Dengue

EDTA = ethylenediamine tetra-acetic acid (ácido etileno-diamino tetra-acético)

rpm = rotações por minuto

DNA = ácido desoxirribonucléico

TRIS = tris (hidroximetil) amino metano

HCl = ácido clorídrico

NaCl = cloreto de sódio

et. al = e colaboradores

## LISTA DE SÍMBOLOS E MEDIDAS

ml = mililitros

mM = milimolar

$\mu$ l = microlitro

h = hora

TE = solução tampão

M = molar

% = por cento

$^{\circ}$ C = grau Celsius

v/cm = volts por centímetro

g/ml = gramas por mililitro

= igual

CORREA, G.N.S. **INFECÇÃO POR *Rickettsia rickettsii* EM CÃES, EQUÍDEOS E CARRAPATOS DE ÁREAS DE OCORRÊNCIA DE FEBRE MACULOSA BRASILEIRA NA REGIÃO CENTRAL DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO.** Espírito Santo, 2015. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), 2015.

O estado do Espírito Santo possui histórico de casos de febre maculosa brasileira (FMB) datados do final da década de oitenta, registrados pela primeira vez na região de Colatina. O município fica localizado na região Central do estado. Desde então, os casos de FMB passaram a ser notificados, observando-se a ocorrência de quase 60% do total na região Central do Espírito Santo. Esta pesquisa teve como objetivos estudar a epidemiologia da Febre Maculosa Brasileira em áreas consideradas endêmicas na região Central do estado do Espírito Santo, bem como identificar a espécie de carrapato com maior taxa de infecção por riquetsias por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR) e caracterizar sorologicamente os cães e equídeos quanto à infecção por riquetsias por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Os municípios visitados foram todos aqueles que, entre os anos de 2007 e 2014, tiveram casos confirmados de FMB: Baixo Guandu, Colatina, Mantenópolis, Pancas, São Gabriel da Palha, São Roque do Canaã e Vila Valério. Como área-controle, foi considerado o município de São Domingos do Norte onde, até o presente momento, não existe notificação de casos de FMB. As coletas foram realizadas nos locais prováveis de infecção (LPI), entre novembro de 2013 e novembro de 2014, em base mensal. No total, foram coletadas amostras sorológicas de 72 cães (1,38% de positividade na RIFI) e 107 equídeos (4,63% de positividade na RIFI), totalizando 179 hospedeiros amplificadores. As espécies de carrapatos observadas, dentre os 2.640 espécimes coletados, foram *Amblyomma sculptum* (72,65%), *A. dubitatum* (0,41%), *Rhipicephallus (Boophilus) microplus* (2,23%), *R. sanguineus* (4,01%) e *Anocentor nitens* (20,68%). Deste quantitativo, apenas um carrapato (0,0038%) da espécie *A. sculptum* apresentou-se com resultado positivo na PCR. Em todos os municípios visitados, inclusive na área-controle, foi

percebida a presença de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). Por mais que o maior quantitativo de coletas tenha sido representado pela principal espécie de carrapato envolvida na transmissão da FMB na região Sudeste do Brasil, o *A. sculptum*, os resultados da PCR foram baixos, bem como o foram aqueles da avaliação sorológica pela RIFI para detecção de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* nos hospedeiros amplificadores. Tendo em vista o histórico da região avaliada no presente estudo, além dos baixos resultados observados nos exames laboratoriais, pode-se concluir que, possivelmente, o ciclo da FMB na região Central do Espírito Santo é mantido, em grande parte, por hospedeiros amplificadores silvestres, em especial capivaras. Os baixos resultados tanto na PCR, quanto na RIFI, podem ser decorrentes à ausência de investigação de outras espécies de riquetsia de importância médica, além da *R. rickettsii*. É necessária a continuidade de pesquisas na região do presente estudo, inclusive na área-controle (positividade sorológica em um equino), uma vez que há escassez de informações acerca tanto da ecologia, quanto da epidemiologia da FMB no estado do Espírito Santo. Entretanto, atenção especial deve ser dada à investigação do ciclo silvestre, bem como, à investigação de outras espécies de riquetsias de importância médica.

**Palavras-chave:** Febre Maculosa Brasileira, ácaros e carrapatos, especificidade de hospedeiro, epidemiologia, meio silvestre.

## ABSTRACT

CORREA, G.N.S. ***Rickettsia rickettsii*'s Infection in Horses, Dogs and Ticks from Areas of Occurrence of Brazilian Spotted Fever in the Central Region of the State of Espírito Santo.** Espírito Santo, 2015. Dissertation (Master). Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), 2015.

The State of Espírito Santo has a history of cases of Brazilian Spotted Fever (BSF) since the end of the eighties, registered for the first time in the region of Colatina. The municipality is located in the Central region of the State. Since that, the cases of BSF continued to be reported, with the occurrence of almost 60% of them at the Central region of Espírito Santo. This research aimed to study the Brazilian Spotted Fever's epidemiology in endemic areas from the Central region of the State of Espírito Santo as well as to identify the tick species with the higher infection rate by *Rickettsia* through Polymerase Chain Reaction (PCR) and to determine the positivity rate in dogs and horses through the Indirect Immunofluorescence Reaction (IFI). The municipalities visited were all those who, between the years of 2007 and 2014, had confirmed cases of BSF: Baixo Guandu, Colatina, Mantenópolis, Pancas, São Gabriel da Palha, São Roque do Canaã and Vila Valério. It was taken as the control area the municipality of São Domingos do Norte where there are not reports of cases of Brazilian Spotted Fever so far. The collections occurred in the suspected infection sites (SIS) between the months of November 2013 and November 2014, on a monthly basis. In total, blood samples were collected for serology from 72 dogs (1,38% of IFI positivity) and 107 horses (4,63% of IFI positivity), totaling 179 amplifying hosts. The ticks species observed, among the 2.640 specimens collected, were *Amblyomma sculptum* (72,65%), *A. dubitatum* (0,41%), *Rhipicephallus (Boophilus) microplus* (2,23%), *R. sanguineus* (4,01%) and *Anocentor nitens* (20,68%). From that number, only a tick (0,0038%) identified as *A. sculptum* disclosed a positive result in PCR. All municipalities visited, including the control area, had the presence of capybara's (*Hydrochaeris hydrochaeris*). As much as the largest quantity of collections has

been represented by the main tick species involved in the transmission of the FMB in the Southeast of Brazil, *A.sculptum*, the PCR results were low as well, were those of serological evaluation by IFI for detection of anti-*Rickettsia rickettsii* antibodies in the amplifying hosts. In view of the history of the region evaluated in this study, besides the low amount of results observed in the laboratory tests, it can be concluded that, possibly, the BSF's cycle in the Central region of the Espírito Santo is maintained, in large part, by wild amplifying hosts, mainly the capybaras. The low results, as the PCR, as the IFI, may be due to the lack of research from other rickettsias' species of medical importance. It is of paramount importance an active surveillance in these areas, including the municipality of São Domingos do Norte (control area: positive result at IFI in a horse). The performance of new surveys, both acarological as serological, focused on the amplifying hosts and including others rickettsias' species, will allow a better understanding of as the epidemiology, as the ecology, of BSF in the Central region of the State of Espírito Santo.

**Key-words:** Brazilian Spotted Fever, mites and ticks, specificity's host, epidemiology, wild life.



## 1. INTRODUÇÃO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infectocontagiosa de notificação compulsória ao Ministério da Saúde desde o ano de 2001 (BRASIL, 2014), sendo seu agente etiológico a bactéria *Rickettsia rickettsii*, microorganismo intracelular obrigatório.

A transmissão da *R. rickettsii* ao homem ocorre por meio da picada de carrapatos infectados (VIEIRA et al., 2004; BRASIL, 2014) sendo no Brasil, a espécie de carrapatos mais envolvida na transmissão o *Amblyomma sculptum*, conhecido vulgarmente como “carrapato-estrela” (VIEIRA et al., 2004). Em algumas áreas do país, outras espécies de carrapato têm sido relatadas na transmissão, a exemplo do *Amblyomma aureolatum*, do *Amblyomma dubitatum* (LABRUNA, 2009; FIGUEIREDO, 1999) e do *Rhipicephallus sanguineus* (OLIVEIRA 2005; OLIVEIRA et al. 2008; GAZETA et al., 2009; GHERKE et al., 2009; CUNHA et al., 2009, LABRUNA, 2009).

A doença possui uma taxa de letalidade que varia entre 20 e 30% (DEL FIOLE et al., 2010), podendo chegar a 80% quando na ausência de tratamento adequado. Quando instituído de forma adequada, em até 72h após aparecimento dos sintomas, a taxa de letalidade gira em torno de 2% para crianças e 9% para indivíduos maiores de 65 anos (BRASIL, 2014). Óbitos, na maioria das vezes, correspondem a complicações devido à ação bacteriana nas células do endotélio vascular. Por ser um microorganismo intracelular obrigatório, há destruição do endotélio. Consequentemente, quadros hemorrágicos ocorrem, tendo como agravantes insuficiência respiratória e insuficiência renal aguda, estas presentes nos casos fatais (OLIVEIRA, 2005). Na maioria dos casos, os pacientes não relatam contato com carrapatos, dificultando a elucidação do diagnóstico (VIEIRA et al, 2004).

No estado do Espírito Santo há registro de casos da doença, inclusive fatais (SPOLIDORO, 2009). O primeiro surto no estado foi em região próxima à cidade de Colatina, em uma área de plantio de café, entre 1990 e 1991, culminando com seis casos e quatro óbitos (SEXTON et. al, 1993). Entre os

anos de 2007 e 2012, foram notificados, de acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), aproximadamente 19 casos, com 58% ocorrido na Região Central do Espírito Santo. Na região, dos 18 municípios, sete (38,88%) apresentaram casos positivos. A falta de conhecimento acerca da epidemiologia da doença no Espírito Santo, atrelada à dificuldade diagnóstica e à subnotificação de casos, bem como, o histórico de óbitos na região de estudo, refletem a importância deste trabalho para a saúde pública.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Etiologia**

A FMB foi registrada pela primeira vez no país em 1929 no estado de São Paulo, na localidade onde hoje se localizam os bairros de Sumaré e Perdizes (GALVÃO et al., 2004). José Toledo Piza iniciou a distinção da febre maculosa brasileira, ora conhecida como “typho endêmico de São Paulo”, das demais doenças exantemáticas inclusive demonstrando a semelhança com outra doença já conhecida desde 1899 nos Estados Unidos, a Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) (GALVÃO et al., 2002). Monteiro, em 1931, no periódico *Brasil-Médico*, publicou um estudo sobre o comportamento do possível agente etiológico da typho endêmica de São Paulo, onde a suspeita a cerca do agente etiológico era de um agente viral, supostamente transmitido por meio da picada de artrópodes parasitas de animais silvestres, como pequenos roedores. São Paulo e Minas Gerais foram os primeiros estados brasileiros com registro da doença. Em Campinas, é uma doença de notificação compulsória desde 1996 (VIEIRA *et. al*, 2004), tornando-se de notificação compulsória aos serviços de saúde, em âmbito nacional, desde 2001 (BRASIL, 2014).

É uma zoonose importante, sendo transmitida por carrapatos. De acordo com o SINAN, foi registrado no Brasil, entre os anos de 2000 a 2015 (até novembro de 2015), um quantitativo de 1.387 casos de FMB, com 462 óbitos (33,31% dos casos). Na região Sudeste, nesse mesmo período, foram registrados 1.175 casos (84,71%), com 457 óbitos.

A distribuição da *R. rickettsii* é mundial, a exemplo da FMMR onde o agente etiológico é o mesmo da FMB. A *R. rickettsii*, dentre as espécies de riquetsias de interesse médico, pertence ao Grupo da Febre Maculosa (GFM). O gênero *Rickettsia* é dividido em três grupos: (GALVÃO et al., 2004; HORTA, 2006):

- Grupo Ancestral (GA): *R. canadensis* (considerada por alguns autores como membro do grupo Tifo) e *R. bellii*;
- Grupo Tifo (GT): *R. prowazekii* (esta já encontrada em carrapatos no Espírito Santo – OLIVEIRA, 2005) e *R. typhi*;
- Grupo da Febre Maculosa (GFM): constituído por mais de 30 espécies, sendo que 15 causam doença nos humanos. São elas: *R. aeschlimannii*, *R. africae* (febre da picada do carrapato), *R. akari* (riquetsiose variceliforme ou vesicular), *R. australis* (tifo do carrapato de Queensland), *R. conorii* (febre botonosa ou maculosa do Mediterrâneo), *R. felis* (tifo das pulgas californianas), *R. helvetica*, *R. honei* (tifo da ilha Flinders), *R. japonica* (febre maculosa oriental), *R. marmionii*, *R. mongolotimonae* (riquetsiose europeia), *R. parkeri*, *R. rickettsii*, *R. sibirica* (tifo siberiano ou do norte da Ásia) e *R. slovaca* (PAROLA et al., 2001; GALVÃO et al., 2005; BROUQUI et al., 2006; ZAVALA-CASTRO et al., 2006; RASHID et al., 2008; ROVERY et al., 2008; DOBLER et al., 2009; GEHRKE, 2010; LABRUNA et al., 2011; MEDIANNIKOV et al., 2012).

Na América do Sul, as riquetsias de maior importância na saúde pública, de acordo com Labruna (2009), são: *R. prowazekii*, transmitida por piolhos e, de acordo com Oliveira – 2005 –, detectada pela primeira vez em carrapatos no município de Nova Venécia – Espírito Santo –, pela autora; *R. tify*, transmitida por pulgas; *R. rickettsii*, transmitida por carrapatos; *R. felis*, que infecta pulgas tendo sido identificada no Brasil, Peru, Uruguai, Chile e Argentina; *R. parkeri*,

que infecta carrapatos, sendo encontrada no Uruguai e Brasil; *R. massiliae*, que infecta carrapatos na Argentina; *R. amblyommii*, que infecta carrapatos na Argentina, Guiana Francesa e Brasil; *R. bellii*, relatada em carrapatos na Argentina e Brasil; *R. andeanae*, infectando carrapatos no Peru; *R. rhipicephalli*, infectando carrapatos no Brasil.

Como já foi dito, a transmissão das riquetsias ocorre por meio da picada de carrapatos infectados. De acordo com Niebylski et al. (1999) e Socolovschi et al. (2009), quando há a infecção nesses artrópodes, a riquetsia induz modulações gênicas que viabilizem simbiose entre a bactéria e o vetor. Por exemplo, inibição de moduladores gênicos que interfiram diretamente na imunocompetência do artrópode, como aqueles que suprimem a produção de defensinas, lisozimas. Ainda, há expressão de genes que auxiliam no processo do parasitismo, o que favorece a disseminação das riquetsias, amplificando a transmissão da bactéria entre hospedeiros vertebrados amplificadores. Um exemplo que pode ser citado é a estimulação de mediadores vasodilatadores no hospedeiro e de substâncias adesivas na saliva do carrapato. A interação bactéria-carrapato, entretanto, também pode refletir um efeito deletério ao próprio carrapato (NIEBYLSKI et al., 1999).

Acidentalmente, pode haver transmissão por inalação (laboratórios), bem como durante o contato com tecidos e fluidos (hemolinfa) de carrapatos infectados, principalmente durante a remoção do parasito de hospedeiros (NIEBYLSKI et al., 1999). Há possibilidade de transmissão da riquetsia entre carrapatos tanto durante a cópula, quanto por via transovariana (MACALUSO et al., 2003). Ainda de acordo com Macaluso et al. (2003), um carrapato que esteja infectado por determinada espécie de riquetsia não é capaz de transmitir uma outra espécie diferente para a progênie. É possível também a transmissão entre carrapatos durante a hematofagia, que pode ocorrer de forma mútua quando há agrupamento desses artrópodes num mesmo ponto de parasitismo. A alimentação mútua favorece a dispersão direta da riquetsia a outro carrapato pela proximidade dos hipostômios (VIEIRA et al., 2004).

Independentemente da espécie de carrapato envolvida na transmissão, para que a bactéria infecte o hospedeiro, o transmissor necessita de um tempo de

parasitismo que varia de cinco a 20 horas (SANGIONI, 2003; VIEIRA et al., 2004). Entretanto, Saraiva (2012), em experimento realizado em laboratório com carrapatos da espécie *A. aureolatum*, constatou que o tempo a partir do momento da picada até a transmissão da bactéria pode variar de 12 horas até 10 minutos. Este tempo menor foi observado em adultos pré-alimentados por 48 horas em coelhos. Tal se deve ao fato da *R. rickettsii* encontrar-se nas glândulas salivares dos carrapatos previamente alimentados, divergindo daqueles onde tenha havido jejum, uma vez que, quando prolongado, a bactéria torna-se avirulenta devido a ausência de nutrientes do sangue ingerido durante o parasitismo (NIEBYLSKI et al., 1999; SOCOLOVSKI et al., 2009).

Segundo Galvão et al. (2003), o período de incubação da doença em humanos é de dois a catorze dias, podendo sofrer a influência de algumas variáveis, como, por exemplo, a carga do inóculo, a virulência da cepa e a eficácia da espécie de carrapato em transmitir o patógeno. Para que haja o estabelecimento de uma população de carrapatos em uma determinada área, há a necessidade, de acordo com a espécie envolvida, da presença de um hospedeiro primário para as formas adultas, uma vez que formas imaturas não possuem muita especificidade parasitária (FIGUEIREDO et al., 1999; VIEIRA et al., 2004; PINTER et al., 2008). Por exemplo, a espécie mais envolvida na transmissão da FMB, o *A. sculptum*, possui como hospedeiros primários de maior importância os equinos, que resistem a grandes cargas parasitárias. Um único cavalo consegue albergar cerca de 50.000 larvas, ou 12.000 ninfas ou, de acordo com a situação, 2.000 adultos (VIEIRA et al., 2004).

No caso do carrapato *A. aureolatum*, o hospedeiro primário pode ser tanto o cão silvestre quanto o doméstico (LE MOS et al., 1996; VIEIRA et al., 2002; PINTER et al., 2008; LABRUNA, 2009; GAZETA et al., 2009). Já a espécie *A. dubitatum* possui como hospedeiro primário a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). Em alguns locais, como por exemplo, contato com eqüídeos, a capivara é um importante hospedeiro primário também para o *A. sculptum* (VIEIRA et al., 2004; SPOLIDORO, 2009).

Nem todas as espécies de hospedeiros vertebrados mantêm uma riquetsemia elevada. Devido a isso, funcionam, na verdade, como amplificadores, pois

possibilitam que outros ectoparasitos se alimentem de um animal infectado. Para Labruna (2009), uma espécie hospedeira é considerada como um bom amplificador, quando:

- Há abundância em área endêmica de FMB;
- É hospedeira primária da espécie de carrapato envolvida;
- Tem suscetibilidade para infecção pela riquetsia em questão;
- Mantém a “riquetsemia” por tempo suficiente para infectar outros carrapatos durante o repasto sanguíneo de novas linhagens;
- Mantém-se perene, com manutenção principalmente de novos indivíduos não imunizados circulando na área endêmica.

Ainda de acordo com Labruna (2009), uma vez infectado, quando o hospedeiro tiver um segundo contato com o patógeno, a memória imunológica desfavorecerá uma boa riquetsemia. No Brasil, cavalos, capivaras e gambás (*Didelphis aurita*) são bons exemplos de hospedeiros amplificadores. Gambás conseguem manter uma boa bacteremia por aproximadamente quatro semanas, sendo que a maioria dos hospedeiros consegue mantê-la por uma a duas semanas. Outra grande importância dos hospedeiros é a de servirem como hospedeiros sentinelas em áreas endêmicas de FMB (HORTA et al., 2004; PINTER et al., 2008; GAZETA et al., 2009). Humanos não são considerados hospedeiros amplificadores e, uma vez infectados, há suspeita de que a imunidade seja duradoura (VIEIRA et al., 2005).

Os carrapatos são os responsáveis por manterem a circulação da *R. rickettsii* no ambiente. Logo, funcionam tanto como hospedeiros quanto como reservatórios das riquetsias (VIEIRA et al., 2004). Por mais que haja manutenção no ambiente, alguns trabalhos relatam que, mesmo diante de transmissão transtadial e transovariana, quando infectados por riquetsias, os carrapatos podem desenvolver desde alterações genéticas que inviabilizem a sobrevivência (deformidades), até redução tanto na viabilidade dos ovos quanto na sua eclosão, em até 70% (NIEBYLSKI et al., 1999; SOCOLOVSKI et al., 2009). Niebylski et al. (1999) afirmam ainda que passagens consecutivas por gerações de carrapatos (via transovariana) tornam a riquetsia ou avirulenta, ou

com virulência reduzida. Entretanto, algumas espécies, como o *R. sanguineus*, quando infectados por riquetsias, como a *R. rhipicephali*, exibem quase nenhuma alteração seja em decorrência de diminuição da virulência, seja de alterações no processo reprodutivo.

## 2.2. Particularidades dos Principais Vetores da FMB no Brasil

### 2.2.1 Complexo *Amblyomma cajennense*

Conhecido vulgarmente como carrapato-estrela, o *A. sculptum* é o principal vetor na transmissão da doença no país (VIEIRA et al., 2004; BRASIL, 2014), principalmente devido à grande inespecificidade parasitária. Em pesquisa realizada por Nava et al. (2014), mediante a morfologia, distribuição geográfica e interação riquetsia-carrapato, houve uma nova organização taxonômica, sendo criado, assim, o Complexo *Amblyomma cajennense*.

Este complexo é dividido em seis espécies, a saber: *A. cajennense sensu stricto*, encontrado na região Amazônica da América do Sul, principalmente na Venezuela, Guianas e, no Brasil, nos seguintes estados: Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins; *A. intermedium*, distribuído na região interandina do Peru; *A. mixtum*, distribuído do Texas (EUA) ao oeste do Equador; *A. patinoi*, localizando-se ao leste da Cordilheira colombiana; *A. tonelliae*, localizando-se nas regiões mais secas dos Charcos e na região Centro-Oeste da Argentina, Bolívia e Paraguai; e o *A. sculptum*, que se distribui nas áreas úmidas do Nordeste da Argentina, Bolívia e Paraguai. No Brasil, os estados onde há presença do *A. sculptum* são: regiões Sul do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná; regiões ao norte de Pernambuco e Piauí e, ao centro, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás (Figura 1). A identificação é difícil, muitas vezes necessitando-se de diagnóstico molecular, principalmente em fêmeas ingurgitadas, já que há distorção morfológica. Por mais que haja

diferenciação das espécies componentes deste complexo, as características sobre nicho biológico e hospedeiros amplificadores ainda necessitam de pesquisas.

O *A. sculptum* é o carrapato mais envolvido no parasitismo de humanos na região Sudeste do Brasil (LABRUNA, 2009). Por mais que haja grande importância na transmissão, alguns autores relatam dificuldade na realização de estudos sobre a taxa de infecção por *R. rickettsi* em populações de *A. sculptum*, uma vez que os valores são muito baixos – próximos ou iguais a 1%. Por conta dessa característica, considera-se que o *A. sculptum* seja um hospedeiro inadequado para a *R. rickettsi* tendo em vista a baixa capacidade de transmissão da bactéria através de gerações sucessivas (PINTER et al., 2008; LABRUNA, 2009; GAZETA et al., 2009; SZABÓ et al., 2013).

O *A. sculptum* possui vasta dispersão geográfica: desde o Sul dos EUA até o Norte da Argentina, incluindo algumas ilhas do Caribe. De acordo com Szabó et al. (2013), no Brasil, o tipo de vegetação que é mais favorável ao desenvolvimento do vetor é aquela representada pela mata ciliar e cerrado. A devastação das áreas de Mata Atlântica favorece o vetor, uma vez que a alta umidade nas florestas chuvosas possui ação deletéria sobre ele. Ainda de acordo com Szabó, tendo em vista a suscetibilidade ou resistência à infecção pelas riquetsias, há diferença na transmissão da *R. rickettsi* de acordo com a região do Brasil onde o carrapato é encontrado, o que provavelmente está relacionado à ocorrência das diferentes espécies do complexo.

Todos os estados brasileiros das regiões Centro-Oeste e Sudeste possuem o *A. sculptum* (VIEIRA et al., 2004). Estes carrapatos podem realizar parasitismo em massa, causando intensa reação inflamatória no local da picada, que dura por vários dias, devido ao tamanho do hipostômio e à ação da saliva (reação de hipersensibilidade). Em consequência do intenso prurido causado pela saliva, pode haver infecção secundária no local da picada (VIEIRA et al., 2004).

Cada fêmea do *A. sculptum* realiza a postura de aproximadamente 5.000 ovos num período de 25 dias, finalizando com a morte. A viabilidade da geração eclodida gira ao redor de 99%. Ao longo do ano, o carrapato apresenta três estágios de desenvolvimento bem marcados – larva, ninfa e adulto –, tendo



sazonalidade variável (SOUZA et al., 2006). De uma forma geral, entre os meses de outubro e abril, há predominância de formas adultas (períodos quentes e chuvosos). Nos períodos mais secos e frios (outono e inverno), há predominância de formas jovens, tendo as larvas predominância entre os meses de abril e julho e as ninfas de agosto a novembro (VIEIRA et al., 2004). Entretanto, alguns trabalhos demonstram atividade tanto das larvas quanto das ninfas durante todo o ano, principalmente em regiões com presença de mata ciliar (LEMOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; SOUZA et al., 2006).

De acordo com Vieira et al. (2004), o *A. sculptum* é um carrapato com extrema resistência. Quando na ausência de hospedeiros para realização de parasitismo, as larvas suportam seis meses sem se alimentar, ao passo que as ninfas conseguem ficar assim até um ano. Os adultos apresentam o maior grau de resistência: até dois anos. Oliveira (2005) informa que, durante a ausência de alimento, as riquétsias que infectam os carrapatos tornam-se avirulentas. Este fenômeno é reversível durante um novo parasitismo, pois, quando em contato com nutrientes presentes no sangue, bem como com temperatura adequada, a riquétsia torna-se virulenta novamente.

#### 2.2.2. *Amblyomma aureolatum*

O *A. aureolatum* tem preferência por regiões próximas a áreas de Mata Atlântica. Segundo Szabó et al. (2013), ambientes que possuam alta umidade e temperaturas mais amenas / frescas, a exemplo da Mata Atlântica, favorecem o desenvolvimento do ciclo, diferentemente do que ocorre com o *A. sculptum* que é prejudicado quando em alta umidade. Como hospedeiros, são utilizadas aves – principalmente –, do gênero *Turdus* (sabiá) – e roedores para suas formas mais jovens.

Para as formas adultas do parasito, os principais hospedeiros são carnívoros selvagens. Em áreas endêmicas para FMB onde exista atividade parasitária do

*A. aureolatum* em humanos, a taxa de letalidade é próxima a 60% (SZABÓ et al., 2013). O homem é parasitado apenas pela forma adulta (VIEIRA et al., 2004). De acordo com algumas situações relacionadas ao nicho ecológico da área endêmica estudada, a taxa de infecção por *R. rickettsii* da população de *A. aureolatum* pode ser maior do que a de *A. sculptum*. Ainda, o *A. aureolatum* possui maior eficácia de transmissão: sob condições laboratoriais, obteve-se eficácia de 100% de transmissão transtadial e transovariana (LEMOS et al., 1996; SOUZA et al., 2006; PINTER et al., 2008; SZABÓ et al., 2013). Saraiva (2012), em estudo sobre a relação hematofagia e transmissão de riquetsias pelo *A. aureolatum*, comprovou que a transmissão possui maior eficácia quando o carrapato alimenta-se em um segundo hospedeiro (hematofagia prévia). Observou-se que, quando comparado ao *A. sculptum*, a transmissão da *R. rickettsii* ocorre de forma mais proficiente, podendo ocorrer em questão de minutos.

Szabó et al. (2013) relatam que os humanos são suscetíveis ao risco de parasitismo quando há incursão de cães em áreas de mata, trazendo, assim, carrapatos, principalmente machos – o *A. aureolatum* fica fixado por várias semanas no hospedeiro animal. Quando os cães se coçam ou os carrapatos são coletados dos cães pelos proprietários, os parasitos podem se soltar do hospedeiro, favorecendo novo parasitismo.

### 2.2.3. *Rhipicephallus sanguineus*

Uma espécie que tem apresentado destaque na transmissão da FMB é o *Rhipicephallus sanguineus* (CUNHA et al., 2009) – o carrapato vermelho dos cães. A depender da área e da disponibilidade de hospedeiros para repasto sanguíneo, esse carrapato pode parasitar seres humanos e, consequentemente, transmitir riquetsias (LEMOS et al., 1997; LABRUNA, 2009;

GAZETA et al., 2009; GHERKE et al., 2009). Szabó et al. (2013) fizeram uma análise sobre a espécie.

Segundo os autores, no Brasil, foram descritas espécies geneticamente, biologicamente, morfologicamente e geograficamente díspares: uma localizada nas regiões tropical e subtropical e outra no sul da América do Sul (Sudeste do Brasil, Chile, Argentina e Uruguai). Em laboratório, foi observado que, diferentemente do *A. aureolatum* e *A. sculptum*, a *R. rickettsii* não possui ação deletéria sob o *R. sanguineus*. Por mais que ainda não se possuam evidências no país sobre a transmissão, causa preocupação a presença do vetor em perímetro urbano associado com a presença de cães semidomiciliados ou sem donos.

É válido ressaltar que esses cães transitam entre ambientes distintos (ex.: perímetro urbano e áreas de matas). Ou seja, durante o parasitismo, pode haver a concomitância de alimentação de espécies diferentes de carrapatos em um mesmo cão, o que determina um risco de infecção por riquetsias para o *R. sanguineus* durante a fase de bacteremia no hospedeiro. É comum em áreas endêmicas durante a realização de pesquisas que o nível de infecção seja maior em populações de *R. sanguineus* do que em *A. aureolatum*. Devido ao comportamento parasitário do vetor, a transmissão é esporádica, seja por picadas acidentais em seres humanos, seja por compressão dos carrapatos entre os dedos durante coleta em cães domésticos pelos seus donos.

Abrigos de cães e centros de controle de zoonose representam risco à saúde pública quando relacionados à FMB, a exemplo de um surto ocorrido no Rio de Janeiro onde quatro óbitos foram associados à FMB em empregados de um abrigo de cães. Neste caso, apenas o *R. sanguineus* foi observado parasitando os animais e dos 117 cães dos abrigos, 97% apresentavam positividade para *R. rickettsii*. É válido ressaltar que, além da *R. rickettsii*, o *R. sanguineus* também pode transmitir outras riquetsias zoonóticas, a exemplo da *R. conorii*, agente etiológico da Febre Botonosa do Mediterrâneo no continente europeu (ROVERY et al., 2008).

#### 2.2.4. Outras Espécies de *Amblyomma* de Importância Epidemiológica no Brasil

O *A. dubitatum* possui grande relação com áreas que apresentam populações instaladas de capivaras. Parques públicos e instituições de ensino que apresentem populações de capivaras instaladas, a exemplo daquelas encontradas em São Paulo e no Espírito Santo, podem representar risco à saúde pública. Todos os estágios de desenvolvimento utilizam a capivara como hospedeira primária e a inserção do homem neste contexto aumenta o risco de contato com riquetsias (VIEIRA et al., 2004; ESTRADA et al., 2006).

O *A. ovale* é responsável pela transmissão de uma cepa de riquetsia que se assemelha a *R. africae*, *R. sibirica* ou *R. parkeri*, causando enfermidade febril mais branda do que a FMB, encontrada em áreas de Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2013). A transmissão pelo *A. ovale* estende-se do Sul ao Sudeste da costa brasileira, sendo a taxa de infecção desses carrapatos em áreas estudadas de aproximadamente 10%. Carrapatos adultos já foram registrados parasitando cães domésticos que possuíam acesso irrestrito a áreas de mata.

Ainda, a picada de *A. ovale* em humanos é frequente. Szabó et al (2013) ainda citam a extensa plasticidade no bioma do carrapato, podendo ser encontrado em vários habitats, inclusive no Pantanal, Amazônia, Mata Atlântica e cerrado. Não há elucidação sobre os principais hospedeiros. Entretanto, roedores possuem importante papel, a exemplo do *Euryoryzomys russatus*, que é um hospedeiro em potencial para formas imaturas do *A. ovale*. Quando infectados, sofrem rápida soroconversão, prevalecendo por vários dias uma titulação elevada.

## 2.3. Epidemiologia

### 2.3.1. *Rickettsia rickettsii* e riquetsioses ao Redor do Mundo

As riquetsioses são amplamente distribuídas ao redor do mundo. A transmissão, nos EUA, ocorre principalmente por meio da picada de carrapatos do gênero *Dermacentor* sp. (OLIVEIRA, 2005; LABRUNA, 2009). A FMMR foi descrita pela primeira vez em 1873, como cita Oliveira (2005), na região de Bitterroot Valey (Montana – EUA). Sua descrição clínica foi publicada em 1899 pelo pesquisador Maxey (OLIVEIRA, 2005).

De acordo com a região do mundo, nem sempre a *R. rickettsii* é o agente mais envolvido na gênese de riquetsioses. Além do agente etiológico, o vetor envolvido na transmissão de riquetsias difere, seja no gênero do carrapato (ex.: *Ixodes* sp., *Dermacentor* sp., etc.), seja na espécie de artrópode (carrapatos argasídeos, ácaros, piolhos, pulgas) (PAROLA et al., 2001; GALVÃO et al., 2005; BROUQUI et al., 2006; ZAVALA-CASTRO et al., 2006; RASHID et al., 2008; ROVERY et al., 2008; DOBLER et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; MEDIANNIKOV et al., 2012). Por exemplo, na Europa, a *Rickettsia conorii* (agente etiológico da Febre Botonosa do Mediterrâneo) possui grande importância podendo, inclusive, ser transmitida por meio da picada de uma espécie de carrapato comum no Brasil: o *R. sanguineus* (ROVERY et al., 2008).

É válido ressaltar que esta mesma espécie de carrapato pode transmitir outras doenças tanto bacterianas quanto parasitárias, a exemplo da erliquiose canina (*Ehrlichia canis*), babesiose canina (*Babesia canis*), hepatozoonose (*Hepatozoon canis*) e, até mesmo, FMB (*R. rickettsii*), sendo que alguns destes microorganismos são passíveis de provocar doença nos seres humanos (ZAVALA-VELÁSQUES et al., 1996; LABRUNA, 2009; TAYLOR et al., 2010; ALMEIDA, 2011; BARBIERI, 2012). Mesmo que difiram entre gravidade de doença e vetores, as riquetsioses causam quadros clínicos detentores, tanto de morbidade quanto de mortalidade, altas (BRASIL, 2014).

### 2.3.2. A Febre Maculosa no Brasil

A FMB é uma doença de notificação compulsória nos serviços de saúde, em âmbito nacional, desde 2001 (BRASIL, 2014). A maior concentração dos casos no país ocorre na região Sudeste. No Espírito Santo, de acordo com Oliveira (2005), os municípios de maior importância são Colatina, Pancas e Nova Venécia.

Os 19 casos registrados no Espírito Santo pelo SINAN entre 2007 e 2012, além dos municípios mencionados, foram detectados também em Baixo Guandu, Barra de São Francisco, Castelo, Governador Lindenberg, Laranja da Terra, Jaguaré, Santa Maria de Jetibá, São Roque do Canaã, Serra e Vila Valério.

As áreas de maior propensão ao contato com carrapatos são pastos sujos e abandonados, com presença de animais de produção, e próximos a cursos de água (mata ciliar). (VIEIRA et al., 2004; SOUZA et al., 2006). Atividades de pesca, contato com hospedeiros (domésticos ou silvestres) e ecoturismo são de grande importância epidemiológica para a transmissão da doença, bem como trabalhos que lidem com animais ou atividades agrícolas (COSTA et al., 2005). No entanto, por mais que essas atividades ainda liderem a casuística das notificações, o contato com parques públicos dentro de centros urbanos tem ganhado notoriedade no decorrer dos anos devido ao contato com capivaras (ESTRADA et al., 2006; FERREIRA et al., 2006; PINTER et al., 2011).

De acordo com Vieira et al. (2004), em Campinas (São Paulo), cerca de 40% dos casos de FMB confirmados e notificados apresentam relação com capivaras. Estes mesmos autores ressaltam outro dado importante: uma das dificuldades para diagnóstico de FMB é que 15% dos pacientes não relatam contato prévio com carrapatos, o que favorece a confusão diagnóstica com outras enfermidades de caráter febril, exantemático e hemorrágico, como febre hemorrágica da dengue, leptospirose e hepatites virais (BRASIL, 2014; SZABÓ et al., 2013). A dificuldade em estabelecer a ocorrência de contato prévio com carrapatos pode ser explicada pelo fato de que a maioria das transmissões ocorre por meio da picada de formas jovens – larvas e ninfas. Além da difícil

visualização devido ao tamanho, as picadas por essas formas não causam muitas reações locais, como dor ou prurido (VIEIRA et al., 2002). Assim, os meses de maior risco para a transmissão estendem-se de abril a outubro, período de maior atividade das formas imaturas dos carrapatos (SOUZA et al., 2006).

A probabilidade de exposição à FMB depende da taxa de infecção dos carrapatos de uma determinada área pela riquetsia. Assim sendo, a taxa de infecção por *R. rickettsii* deve ser de 10% numa determinada população para representar algum risco de transmissão (VIEIRA et al., 2005; PINTER et al., 2011). Doenças transmitidas por carrapatos são focais e esporádicas. Quando ocorrem surtos, outros fatores devem estar presentes, como a distribuição do vetor na área de estudo, a virulência da riquetsia envolvida e a maior susceptibilidade do hospedeiro.

A baixa incidência de infecção de populações de carrapatos pelas riquetsias é um problema particularmente frequente quando se trabalha com *A. sculptum* (PINTER et al., 2008). Labruna (2009) relata que este carrapato não é um vetor efetivo na transmissão da *R. rickettsii*, tendo o *A. aureolatum* maior efetividade. Porém, a inespecificidade parasitária do *A. sculptum* é muito grande e, conseqüentemente, o parasitismo em humanos é alto, o que reforça sua posição, tanto no Brasil quanto na região Sudeste, de principal vetor da FMB para nossa espécie (LE MOS et al., 1996; LEMOS et al., 1997; VIEIRA et al., 2004; PINTER et al., 2008; LABRUNA, 2009; GAZETA et al., 2009).

Segundo Oliveira (2005), durante revisão de FMB, a baixa incidência da *R. rickettsii* em populações de carrapatos, a exemplo do *A. sculptum*, explica-se pela ação deletéria da riquetsia para o artrópode, principalmente nos ectoparasitos adultos. Assim, os hospedeiros amplificadores tornam-se imprescindíveis para a manutenção do ciclo da FMB. Não têm sido reportados casos clínicos de FMB em cães no Brasil (BATISTA et al., 2010).

### 2.3.3. A Febre Maculosa Brasileira no Espírito Santo

O Estado do Espírito Santo teve o primeiro relato de febre maculosa entre os anos de 1990 e 1991, no município de Colatina, região Central do Estado. O surto, onde foram notificados seis casos – quatro suspeitos e dois confirmados por meio de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) –, foi acompanhado por Sexton et al. (1993). O local provável de infecção foi uma área próxima à cidade de Colatina onde era praticada cafeicultura. Três dos quatro pacientes tiveram, em 1990, contato com este vale (duas semanas antes do início dos sintomas) estando envolvidos em atividade de caça.

Quase um ano depois, dois caçadores regressaram ao mesmo local e tiveram doença febril aguda e intensa, que culminou em óbito. Houve encefalite. Nenhum dos pacientes recebeu tratamento adequado em tempo hábil. Em novembro de 1991, Sexton et al. (1993) coletaram sangue de 25 cães com idades entre seis meses e 11 anos de idade que viviam no vale em uma extensão de 10km ao redor dos focos, sendo que dois dos 25 cães demonstraram sorologia positiva (1:256 e 1:64). Os demais apresentaram resultado inferior a 1:16. Os cães positivos viviam no vale onde ocorreu o surto. Alguns trabalhos realizados no Estado do Espírito Santo demonstram a importância da Febre Maculosa Brasileira (SEXTON et al., 1993; OLIVEIRA, 2005; OLIVEIRA, 2008; SPOLIDORIO, 2009). O ano de 2005 teve o maior número de casos no Brasil (172 casos), sendo que o ES obteve o quinto lugar do país (34 casos) (DEL FIOLE et al., 2010). Oliveira (2008) destaca a dificuldade relacionada ao diagnóstico precoce da doença, atrelada à falta de conhecimento sobre a cadeia epidemiológica da FMB, o que provoca falhas tanto na atenção primária ao paciente quanto na notificação de casos suspeitos. Ainda há, além de subnotificação dos casos, confusão com outras enfermidades com quadros clínicos semelhantes, como leptospirose, febre hemorrágica da dengue, hepatites virais e meningococcemia (BRASIL, 2014).



### **3. JUSTIFICATIVA**

Este estudo possui grande importância para o Espírito Santo por possibilitar uma melhor compreensão acerca da cadeia epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. É válido ressaltar que se trata de uma doença infecciosa que não possui sinais patognomônicos, dificultando assim a elucidação de um diagnóstico preciso. Consequentemente, o atraso no tratamento adequado ao paciente pode resultar em um prognóstico sombrio. Como manifestações hemorrágicas são comuns no paciente devido à ação do agente etiológico no epitélio vascular, muitas vezes, a Febre Maculosa Brasileira é confundida com outras doenças infecciosas, tais como leptospirose, dengue, meningococemia, hepatites virais, síndrome Baggio-Yoshinari. O desconhecimento por parte dos pacientes sobre o contato com carrapatos é comum quando se investiga os casos suspeitos, o que é preocupante, pois pode levar a tratamentos ineficazes ou, até mesmo, subnotificação dos casos. A região central do Espírito Santo detém, numa série histórica dos últimos 10 anos, aproximadamente 58% dos casos confirmados de FMB de todo o estado. Dos 15 casos confirmados nessa região, quatro deles (26,66%) foram fatais.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo Geral**

Estudar a epidemiologia da Febre Maculosa Brasileira em áreas consideradas endêmicas na região central do estado do Espírito Santo.

## **4.2. Objetivos Específicos**

- Identificar a infecção por riquetsias em carrapatos por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR).
- Caracterizar sorologicamente cães e equídeos quanto à infecção por riquetsias por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

## **5. MÉTODOS**

As atividades de coleta dos ectoparasitos e do sangue dos cães e equídeos, bem como a estratificação das áreas de coleta, tiveram as seguintes bases científicas: Guia de Vigilância Acarológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo / Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN e o Guia de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde. Adicionalmente, foram seguidas informações disponibilizadas pelos Doutores Gilberto Salles Gazêta (Laboratório de Ixodídeos – Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses) e Nicolau Maués Serra-Freire (Serviço de Referência em Carrapatos de Importância Médica e Veterinária do IOC / Fiocruz).

### **5.1. Área de Estudo**

A localização geográfica dos pontos de coleta pode ser visualizada na tabela 1. A extensão da área de pesquisa, contemplando 19 pontos de coleta estando, a área-controle, já inclusa, está desenhada na figura 4.

**Tabela 1.** Localização geografia, obtida por meio de GPS, dos pontos de coleta.

MUNICÍPIO	LOCALIDADE	LATITUDE	LONGITUDE
Baixo Guandu	São José	19°30'57"	41°0'21"
Baixo Guandu	Sapucaia	19°30'57"	41°0'26"
Colatina	Carlos Germano Nauman	19°28'38"	40°40'32"
Colatina	Acampamento	19°32'20"	40°39'32"
Colatina	Simonassi	19°30'33"	40°38'31"
Colatina	Córrego das Flores	19°29'36"	40°37'11"
Colatina	Honório Fraga	19°31'14"	40°39'21"
Colatina	Tropical	19°31'03"	40°38'30"
Colatina	Acampamento	19°32'32"	40°39'34"
Mantenópolis	Córrego Alto São José	19°54'37"	41°05'07"
Pancas	Sumidouro do Pancas	19°13'30"	40°51'05"
Pancas	Vila Verde	19°58'30"	40°52'34"
São Domingos do Norte	Rodovia do Café	19°10'25"	40°37'53"
São Domingos do Norte	Barra do Novo Brasil	19°09'43"	40°30'05"
São Gabriel da Palha	Palmeira	19°59'36"	40°31'49"
São Roque do Canaã	Distrito de Santa Júlia	19°38'49"	40°39'21"
São Roque do Canaã	Fazenda Coutinho	19°41'37"	40°40'18"
Vila Valério	Córrego de Areia	19°51'29"	40°17'10"
Vila Valério	Córrego do Tesouro	19°56'33"	40°17'43"

## 5.2. Coletas

As coletas ocorreram a partir de novembro de 2013, com duração de um ano em base mensal. Os locais prováveis de infecção (LPI) foram visitados, ao menos, duas vezes, sendo dois LPI diferentes visitados a cada mês. Sendo assim, quinze visitas foram realizadas, sendo divididas da seguinte forma: cinco em Colatina, duas em Pancas, uma em São Gabriel da Palha, uma em Mantenópolis, duas em Baixo Guandu, duas em São Roque do Canaã e duas visitas em Vila Valério. Todos os locais visitados são LPI notificados, com

exceção de São Domingos do Norte. Esta região, escolhida como área-controle por ser considerado um município indene, recebeu uma visita.

A Região Central do ES (Figura 2) (ESPÍRITO SANTO, 2011), composta por 18 municípios, foi selecionada após a realização de investigação da série histórica dos casos confirmados de Febre Maculosa Brasileira no estado nos últimos oito anos (2007 a 2014), por meio do SINAN. Como resultado da investigação, foi observado que aproximadamente 58% dos casos, nesses últimos oito anos, distribuem-se entre sete municípios. São eles: Baixo Guandu (dois casos), Colatina (sete casos), Pancas (dois casos), São Gabriel da Palha (um caso), São Roque do Canaã (dois casos), Vila Valério (dois casos) e Mantenópolis (um caso).

Nestes municípios, predominam atividades agrícolas e três são cortados pelo Rio Doce: Linhares, Colatina (maior extensão) e Baixo Guandu. Todos os municípios com histórico de FMB citados acima pertencem à Bacia Doce-Suruaca (Figura 3). Colatina apresenta uma conhecida população de capivaras (*H. hydrochaeris*), principalmente na região de Itapina, interior do município, local onde há histórico de casos de Febre Maculosa Brasileira.

A área de coleta foi o local provável de infecção (LPI) nos municípios listados. Foram coletadas amostras biológicas nos cães e equídeos tendo como área-controle o município de São Domingos do Norte, local onde não existe o registro de casos de FMB. São Domingos do Norte faz divisa com os seguintes municípios: Colatina, Pancas, Governador Lindenberg, Vila Valério, São Gabriel da Palha e Águia Branca.

A metodologia foi semelhante àquela utilizada no inquérito realizado por Horta (2006), em São Paulo, para avaliar a prevalência de *R. felis* em hospedeiros e potenciais reservatórios. No inquérito de Horta, foram escolhidas áreas com casos confirmados de FMB nos últimos 21 anos, inclusive casos fatais (Mogi das Cruzes, Pedreira, Piracicaba e São Paulo), sendo comparadas a áreas indenas com características geográficas semelhantes (Pirassununga).

O laboratório responsável pela análise do sangue foi o Laboratório de Parasitologia e Epidemiologia Molecular pertencente à Universidade Federal de

Viçosa (MG), sob a coordenação do Prof. Dr. Cláudio Lísias Mafra de Siqueira. Já os carrapatos, foram enviados para o Laboratório Central de Saúde Pública (Lacen). A responsabilidade de análise do material ficou a cargo do Laboratório de Referência Nacional para Ixodídeos (RJ), pertencente ao Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz).

#### 5.2.1. Cálculo Amostral

A frequência de resultados positivos nos diversos exames sorológicos realizados em hospedeiros animais nas áreas de transmissão costuma ser alta, como por exemplo, em equinos onde, em áreas endêmicas para FMB, possivelmente devido ao alto parasitismo por carrapatos, há relato de altos títulos de anticorpos frente à *R. rickettsii* (HORTA et al., 2004). . Considerando a menor frequência observada de sorologias positivas, que foi para anticorpos anti-*Rickettsia bellii* em cães (26%) (HORTA, 2006), uma amostra de 115 animais hospedeiros de cada espécie permitiria a detecção de tal frequência com uma margem de erro bilateral de oito pontos percentuais na estimativa populacional por intervalo (intervalo de confiança de 95%). O cálculo foi realizado com auxílio do programa EPI INFO 7.

### 5.3. Pesquisa das Riquetsias nos Ectoparasitos

As coletas dos carrapatos foram realizadas após inspeção visual dos hospedeiros (cães e equinos), sendo a retirada manual (Figura 5). A coleta foi realizada atenciosamente, com o cuidado de preservar o espécime coletado para que não houvesse a destruição do hipostômio, o que poderia dificultar a taxonomia. Devido à fixação, os carrapatos foram coletados com leve movimento de giro. Após a coleta, os carrapatos foram armazenados em

frascos contendo álcool isopropílico, identificados (município, data, local indene ou local provável de infecção, quantidade de ectoparasitos coletados). A identificação taxonômica foi realizada no Laboratório da Vigilância Ambiental em Saúde da Prefeitura Municipal da Serra (ES).

Foi realizada a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para amplificação do DNA genômico extraído dos ectoparasitos. As técnicas utilizadas foram baseadas naquelas preconizadas por Horta (2006) e Maia (2012). Os carrapatos, após identificação taxonômica, foram separados por estádios de desenvolvimento. Logo, as formas imaturas (larvas e ninfas) foram separadas por “pools” de aproximadamente cinco ectoparasitos por amostra. Os carrapatos adultos foram separados individualmente.

Em seguida, os carrapatos foram submetidos a um processo de fervura com hidróxido de amônio de forma semelhante à técnica preconizada por Maia (2012), baseada na técnica de Christova et al (2001). Após a homogeneização seja dos “pools”, seja dos exemplares adultos, em solução TRIS HCl-EDTA (TE: 10mM Tris - tris(hidroximetil) amino metano – HCl; 1mM ácido etileno-diamino-tetracético – EDTA, pH 8,0), 10µl de proteinase K por ml e 0,5% de solução tampão, o material foi incubado primeiramente a 60°C por 1h e, a seguir, submetido a fervura por 10 minutos, tendo tratamento posterior com 5M de NaCl e brometo de hexadeciltrimetilamonio a 65°C por 20 minutos. A extração do DNA foi realizada em fenol-clorofórmio, sendo precipitado com isopropanol, lavado por etanol, secado e dissolvido em 30µl de 10mM de TRIS (pH 8,0).

Para a amplificação de DNA riquetsial, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores (primers) CS-78 (5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3') e CS-323 (5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT-3'), os quais amplificam o fragmento de 401 pb do gene da citratossintetase (*gltA*). A *gltA* encontra-se presente em todas as espécies de *Rickettsia* sp. (ROUX et al., 1997). Para visualização dos produtos amplificados foi realizada eletroforese em gel de agarose a 2% em cuba horizontal com tampão de corrida. O gel foi submetido à voltagem constante de 6-7 V/cm durante 40 minutos. A imersão do gel em solução de brometo de etídio a 0,5g/ml por 20 minutos e a posterior observação em transiluminador ultravioleta possibilitou a visualização das bandas.

#### 5.4. Inquérito Sorológico em Hospedeiros Vertebrados

O local de predileção para a coleta de sangue nos cães foi a veia femoral. Quando em caso de dificuldade (ex.: cães de pequeno porte), foi utilizada a veia jugular. A contenção dos cães foi realizada em decúbito lateral. No caso de equídeos, o local de punção venosa foi a veia jugular, estando o animal em posição de estação.

Antes de cada punção venosa, independentemente da espécie animal, foi realizada assepsia com álcool a 70%. O sangue foi coletado em tubo descartável, para análise sorológica, sem presença de anticoagulante. Para cada animal, foram coletados 5 ml de sangue. O sangue foi coletado em tubos sem EDTA. A separação do conteúdo celular e do soro foi realizada em laboratório por centrifugação em 3.000 rpm durante 10 minutos. Após a retração do coágulo, o soro foi separado em alíquotas de 2ml e acondicionado em microtubos de polipropileno (Eppendorf). Em seguida, as amostras foram estocadas a -20°C até a realização da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

O protocolo utilizado foi baseado na técnica de Zavala-Velazquez et al. (1996) e de Treadwell et. al. (2000). O princípio do teste consiste na reação do soro dos hospedeiros pesquisados – caninos e equinos –, com células Vero infectadas por *R. rickettsii*, fixadas em lâminas de microscopia para imunofluorescência. Cerca de 90 a 100% das células possuem formas coco-bacilares de riquetsias que são passivas de visualização, quando em resultado positivo. A visualização do complexo antígeno e anticorpo foi possível, devido à adição de anti-imunoglobulina canina ou equina – de acordo com a amostra –, conjugada ao isotiocinato de fluorosceína. As lâminas contendo as células Vero infectadas, bem como os soros controles – positivo e negativo –, ficaram estocados a -20°C para conservação, até o uso, seguindo as normas do fabricante. As amostras de soro canino e equino foram mantidas estocadas

também à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ . O kit utilizado para realização dos testes em equinos foi o Anti-IgG de equino conjugado com isotiocianato de fluoresceína do laboratório SIGMA-ALDRICH.

### **5.5. Análise dos Dados**

Os dados foram armazenados em planilhas do tipo Excel (Microsoft corp.). As variáveis categóricas foram representadas pelas suas frequências absolutas e relativas. As variáveis quantitativas contínuas foram representadas pelas suas medidas de posição central e variabilidade, média e desvio padrão, em razão de ter havido adequação ao modelo de Gauss. Nas diversas áreas em que houve detecção da bactéria as coordenadas geográficas foram obtidas por meio de GPS (Garmin, Inc.) para posterior mapeamento em registros do sistema GEOBASES.

### **5.6. Considerações Éticas**

Todas as coletas dos hospedeiros (sangue e ectoparasitos) foram realizadas por meio de contenção física dos animais. Em momento algum, foi utilizada contenção química. Antes de cada coleta, o proprietário do animal teve ciência e, nos casos onde não houve consentimento, a coleta não foi realizada. A permissão para manipulação dos animais foi concedida pelo Comitê de Ética em Uso de Animais do Centro de Ciências da Saúde da UFES, sob o número de protocolo 001/2014.



## 6. RESULTADOS

### 6.1. Diagnóstico Situacional das Áreas de Coleta

Nos municípios foi possível observar algumas características em comum, inclusive da área-controle, a saber: presença de coleções hídricas ou proximidade com cursos d'água, evidência de presença de capivaras próximos aos LPI, atividade agrícola ou pecuária, áreas de pastejo próximas a regiões de mata e presença de equídeos e cães no intra ou peridomicílio.

### 6.2. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) nos Carrapatos

O número total de carrapatos coletados foi de 2.640 (Tabela 2). O município com maior número de amostras coletadas foi a área controle, São Domingos do Norte (41,89%) (Figura 14). Por mais que, nos dois pontos de coleta, o controle com ectoparasiticida fosse realizado nos animais, havia vestígios da presença de capivaras, o que pode ter favorecido o incremento de parasitos no ambiente. O município de Mantenópolis foi o que demonstrou maior atividade parasitária durante a coleta dos carrapatos (Figura 15). Mesmo durante o período diurno de maior temperatura, entre 11:00h e 14:00h, era possível observar grande quantidade de carrapatos em fase não parasitária em meio à pastagem.

A espécie com maior contingente coletado foi *A. sculptum* (Figura 16), que representou 72,65% de todos os parasitos coletados. A espécie com menor contingente coletado foi a *A. dubitatum* que totalizou 0,42%, sendo coletada apenas no município de Pancas.

**Tabela 2.** Divisão das amostras relacionadas à espécie animal e município de coleta.

Município	<i>A. dubitatum</i> (%)	<i>R.</i> ( <i>Boophilus</i> ) <i>microplus</i> (%)	<i>A. sculptum</i> (%)	<i>R. sanguineus</i> (%)	<i>A. nitens</i> (%)	Total (%)
Baixo Guandu	0	0	32 (1,67%)	68 (64,15%)	49 (8,97%)	149 (5,64%)
Colatina	0	0	96 (5%)	25 (23,58%)	395 (72,34%)	516 (19,55%)
Mantenópolis	0	0	291 (15,17%)	10 (9,43%)	5 (0,92%)	306 (11,59%)
Pancas	11 (100%)	59 (100%)	394 (20,54)	0	50 (9,16%)	514 (19,47%)
São Domingos do Norte	0	0	1.061 (55,31%)	0	45 (8,24%)	1.106 (41,89%)
Vila Valério	0	0	44 (2,29%)	3 (2,83%)	2 (0,36%)	49 (1,86%)
<b>Total</b>	<b>11 (0,42%)</b>	<b>59 (2,24%)</b>	<b>1.918 (72,65%)</b>	<b>106 (4,01%)</b>	<b>546 (20,68%)</b>	<b>2.640 (100%)</b>

Vila Valério foi o município com o menor contingente de carrapatos coletado, totalizando 1,86%, por mais que no início do ano de 2014, meados de fevereiro, tenha ocorrido um caso fatal suspeito de FMB, de acordo com o SINAN, na localidade do Córrego Dourado, e outro caso, não fatal, porém suspeito, na localidade de Córrego Areia.

O município de Baixo Guandu foi o que apresentou maior insalubridade durante a coleta em um dos pontos devido a condições socioeconômicas reduzidas dos proprietários componentes de uma comunidade de carroceiros. Além da ausência de condições higiênico-sanitárias, não havia nem preocupação com ixodidose ou pulicose ou, tampouco, conhecimento sobre o risco da doença. Foi, inclusive, o segundo município com menor contingente de carrapatos coletado (5,64%). Entretanto, este município teve a maior quantidade de *R. sanguineus* coletada (64,15%). Por mais que Baixo Guandu tenha obtido a

menor porcentagem de *A. sculptum* coletados dentre os municípios visitados (1,67%), algumas pessoas que compunham a população ribeirinha próxima ao Rio Guandu possuíam o hábito de criar capivaras em criadouros, seja para engorda, seja como animal de estimação, segundo relato de moradores da região (Figura 17).

Colatina foi o município que apresentou maior contingente de carrapatos da espécie *Anocentor nitens* coletados, totalizando 72,34% entre todos os municípios. Nos municípios de São Gabriel da Palha e São Roque do Canaã, não foi possível a coleta de carrapatos nos hospedeiros uma vez que, previamente, os proprietários dos animais haviam realizado o controle parasitário, inviabilizando, assim, o encontro de artrópodes. Os poucos que foram encontrados já estavam ressecados devido à ação do ectoparasiticida.

De um total de 2.640 carrapatos coletados, apenas em uma ninfa (0,038%), em fase não parasitária, da espécie *A. sculptum*, coletada na localidade de Vila Verde, Pancas, foi encontrado resultado positivo para detecção de riquetsias. As demais amostras foram negativas.

### **6.3. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nos Soros dos Hospedeiros Animais**

O número total de amostras coletadas foi de 179, sendo 107 (59,78%) equinos e 72 (40,22%) cães. De um modo geral, os cães apresentavam-se sadios em todos os pontos de coleta. Entretanto, todos os animais possuíam contato com áreas de risco epidemiológico tanto no perímetro urbano quanto rural. Todas as amostras de sangue foram obtidas de cães que possuíam proprietário.

Sobre os eqüídeos, os animais apresentavam-se ou em condições de aglomeração e trabalho, ou viviam em ambiente com alto índice de infestação de carrapatos, a exemplo de Mantenópolis. São Domingos do Norte, por mais

que tenha sido a área controle, foi o segundo município a apresentar maior contingente de equídeos coletado: 24,29% (Tabela 3).

Dos 179 animais coletados, o resultado foi positivo para detecção de anticorpos anti-*R. rickettsii* em seis deles, sendo um cão (Pancas: 1:128) e cinco equídeos (Pancas: 1:256; Colatina: dois equídeos com titulação de 1:128; São Domingos do Norte: 1:64; e Baixo Guandu: 1:128). Esse quantitativo totaliza 1,38% dos 72 cães e 4,67% dos 107 equídeos coletados e, de acordo com o cálculo para o tamanho da amostra, foi um quantitativo baixo, haja vista que o ideal seria 115 animais de cada espécie hospedeira, por local de coleta.

**Tabela 3.** Divisão de amostras relacionadas à espécie animal e município de residência.

Município	Equino (%)	Cão (%)	Total (%)
Baixo Guandu	18 (16,82%)	24 (33,33%)	42 (23,46%)
Colatina	50 (46,72%)	9 (12,5%)	59 (32,96%)
Mantenópolis	4 (3,73%)	8 (11,11%)	12 (6,70%)
Pancas	3 (2,80%)	8 (11,11%)	11 (6,14%)
São Domingos do Norte	26 (24,29%)	2 (2,78%)	28 (15,64%)
São Gabriel da Palha	1 (0,93%)	7 (9,72%)	8 (4,46%)
São Roque do Canaã	3 (2,80%)	4 (5,56%)	7 (3,91%)
Vila Valério	2 (1,86%)	10 (13,89%)	12 (6,70%)
<b>Total</b>	<b>107 (40,22%)</b>	<b>72 (59,78%)</b>	<b>179 (100%)</b>

Vale à pena ressaltar que no município controle, São Domingos do Norte, local onde não há histórico de casos de FMB, houve a detecção de um equídeo com

sorologia positiva (1:64). As maiores diluições foram observadas em cavalos – 1:128 e 1:256.

## **7. DISCUSSÃO**

As amostras sorológicas demonstraram positividade de 3,35% de um total de 179 animais, referente a 1,38% dos 72 cães coletados, e 4,63% dos 107 equídeos coletados. O quantitativo foi baixo principalmente quando se trata de uma região no Espírito Santo onde se concentra, nos últimos 10 anos, 60% dos casos positivos por comprovação laboratorial de FMB.

O único cão positivo foi coletado no município de Pancas, em julho de 2014, no distrito de Vila Verde, onde uma senhora foi a óbito com suspeita de FMB. O distrito é circundado por área verde, fazendo divisa com os Municípios de Alto Rio Novo, Águia Branca e Mantenópolis, sendo este último local de coleta no LPI de um caso confirmado de FMB. O contato com capivaras ou animais silvestres, bem como o grande tempo de permanência de cães quando em incursão em áreas de mata, aumenta o risco tanto de infestação por ectoparasitos quanto de contato com agentes infecciosos, como riquetsias (VIEIRA et al., 2004; BARBIERI, 2012). Nos municípios de São Roque do Canaã, São Gabriel da Palha, Vila Valério e Pancas, os cães possuíam contato com áreas de mata presentes nas propriedades rurais.. Em São Roque do Canaã, a grande maioria das casas possuía, nos fundos, áreas alagadiças com presença de capivaras sendo que, em uma das residências, o nível do rio era o mesmo da varanda. Havia relatos, inclusive, de que, durante o período reprodutivo, as capivaras tornavam-se mais agressivas, tendo histórico de cães que eram mordidos durante confrontos desencadeados nos momentos de busca de alimento, quando as capivaras entravam nas propriedades em busca de frutas e verduras.

Num estudo realizado por Pinter et al. (2008) em área de transmissão de FMB na região de Mogi das Cruzes, São Paulo, distrito de Taiaçupeba, foi observado que cães que adentravam áreas do cinturão verde que margeava as propriedades rurais apresentavam maior infestação por carrapatos. Neste mesmo trabalho, Pinter et al. (2008) relataram que cães com idade maior que 18 meses apresentaram titulações maiores na RIFI do que cães jovens (variação entre 1:256 e 1:4.096). Para o autor, a hipótese é que esses animais possuíam uma probabilidade maior de exposição a carrapatos e, consequentemente, a riquetsias ao longo da vida. Naqueles cães com idade igual ou superior a 36 meses, a titulação foi ainda maior. Em todos os municípios visitados ao longo do presente estudo, os cães possuíam contato com áreas verdes, principalmente Vila Valério, Pancas, São Domingos do Norte, Mantenópolis e São Roque do Canaã, sendo que, estes três últimos municípios, foram os que demonstraram maior atividade parasitária dos carrapatos quando em vida livre, durante coleta, demonstrada por intensa infestação dos equipamentos de proteção individual.

O único município do presente estudo que apresentou comprovação laboratorial tanto na PCR quanto na RIFI foi Pancas, onde foi evidenciada a infecção em um cão (1,38%), um equino (0,93%) e um carrapato (0,038%). Cardoso e cols. (2006), num estudo realizado em Minas Gerais entre 2002 e 2003, não detectaram positividade sorológica em qualquer dos 73 cães coletados. Entretanto, detectaram a presença de carrapatos das espécies *A. sculptum* e *R. sanguineus*, além de pulgas do gênero *Ctenocephalides* sp., infectados pela *R. felis* – o que é incomum, pois é raro diferentes vetores, numa mesma área, demonstrarem infecção pelo mesmo agente infeccioso (CARDOSO et al., 2006). Pancas também foi o único município do presente estudo onde foi detectada a presença de carrapatos das espécies *A. sculptum* (0,41%) e *R. microplus* (2,23%). Por mais que esta espécie não esteja associada normalmente à transmissão de riquetsias do GFM, Gherke (2010), em um estudo realizado na região Sudeste do Brasil, identificou, em publicação inédita, a presença da *R. rickettsii* infectando a espécie *R. microplus*.

O quantitativo de equinos, como supracitado, foi baixo, com boa distribuição entre os municípios visitados (Baixo Guandu, Pancas, Colatina e São Domingos do Norte). Um dado interessante foi o encontro de positividade sorológica na área controle, o município de São Domingos do Norte (um equino positivo). Os equídeos da região citada, em sua maioria, eram utilizados para trabalhos no campo tendo diariamente contato com áreas de mata ou bordas de mata fechada, com proximidade aos cursos d'água frequentados pelas capivaras. O encontro da positividade sorológica, mesmo que baixa, em um equino da região de São Domingos do Norte, contrapondo-se à negatividade de vestígios riquetsiais nos carrapatos coletados, pode ser referente à presença de capivaras na região.

São Domingos do Norte foi o local com maior contingente de *A. sculptum* coletado, 1.061 amostras, o que corresponde a 55,31% dos 1.918 carrapatos da mesma espécie coletados em todos os oito municípios visitados. Esse valor corresponde, ainda, a quase metade do total de carrapatos coletados na pesquisa, 40,18% das 2.640 amostras coletadas. Outro dado notável foi a baixíssima incidência de carrapatos com positividade na PCR para detecção de vestígios riquetsiais, mesmo que o maior quantitativo desses ectoparasitos coletados refira-se à espécie mais envolvida na transmissão da *R. rickettsii* na região Sudeste – *A. sculptum*. De 2.640 carrapatos coletados, 1.918 corresponderam ao *A. sculptum* sendo que apenas um (0,038%) revelou-se positivo na PCR. Como a PCR visou apenas a amplificação do DNA para detecção de *R. rickettsii*, outras espécies de riquetsia, como a *R. felis*, *R. prowazekii* e *R. parkeri*, podem estar presentes infectando carrapatos coletados nas áreas de estudo. Estas espécies já foram detectadas infectando carrapatos e pulgas no Brasil e no Espírito Santo sendo, inclusive, diagnósticos diferenciais quando na investigação clínica em quadros de FMB (SANGIONI, 2003; OLIVEIRA, 2005; GALVÃO et al, 2005; CARDOSO et al., 2006; LABRUNA, 2009). Outra explicação para tal fato pode ser a ação deletéria da riquetsia no próprio carrapato (NIEBYLSCHI et al., 1999).

É sabido que, quando infectados, os carrapatos podem sucumbir à *R. rickettsii*, refletindo na dificuldade diagnóstica quando da realização de inquéritos.

Algumas espécies são mais resistentes à infecção pela *R. rickettsii*, a exemplo do *A. aureolatum*, muito associado ao parasitismo de animais silvestres (ex. *Cerdocyon thous* – cachorro do mato) ou de cães domésticos que tenham contato com áreas de mata. Não foi encontrada a espécie *A. aureolatum* durante a realização das coletas (PINTER et al., 2008). Um ponto interessante foi a detecção de *R. sanguineus* parasitando um equino no município de Colatina, onde, em 2012, foram notificados dois casos confirmados de FMB, ambos fatais. No local, conviviam cães (cerca de três), sem nenhum tipo de cuidados de manejo de parasitos, sendo os cavalos da propriedade utilizados diariamente para trabalho, ao passo que os cães ficavam presos no peridomicílio. Situação similar foi observada em Caratinga, Minas Gerais, entre 2002 e 2003, por Cardoso et al. (2006).

O controle de ectoparasitos nos animais foi observado em poucos locais, a exemplo de um haras no município de Colatina e nos dois pontos de coleta de carrapatos no município de São Domingos do Norte. Nos outros pontos de coleta, distribuídos entre os municípios que possuíam os casos notificados de FMB, não havia controle de carrapatos de forma adequada, motivo este que aumenta o risco de contato com o vetor. Áreas sujas (terrenos baldios, pastos com vegetação alta, áreas de encosta com acúmulo de lixo) eram comuns nos municípios visitados.

De acordo com Pinter et al. (2011), Vieira et al. (2004) e Lemos et al. (1996; 1997), pastos ou áreas de mata que estejam sujos – crescimento vegetal descontrolado que possa favorecer a criação de microclimas para as fases não parasitárias do carrapato –, possibilitam à população de carrapatos perdurar, principalmente quando na presença de hospedeiros amplificadores. A falta de manejo ambiental adequado exerce grande influência sobre a cadeia de transmissão. O Guia de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) e Pinter et al. (2011) recomendam que as ações de combate ao vetor sejam instauradas e seguidas de forma ininterrupta, ao menos por três anos, respeitando-se a biologia do vetor.



Previamente, em todas as investigações, as Vigilâncias Epidemiológicas de cada município eram contatadas e convidadas para as visitas. Em todas as situações, houve colaboração com participação do corpo técnico ou com esclarecimento sobre a localização exata dos casos notificados. Quando necessário, equipes da Estratégia de Saúde da Família (ESF) acompanhavam as visitas. A atividade de larvas e ninfas, quando relacionada à espécie vetora mais envolvida, *A. sculptum*, possui vigor maior de maio a novembro. Dos 15 casos humanos observados nos últimos 10 anos na região Central do ES, onze casos (73,33%) ocorreram entre os meses de junho e novembro. Dos casos fatais (quatro casos), 75% (três casos), ocorreram entre os meses de julho e agosto. A distribuição dos casos fatais abrangeu os seguintes municípios: Colatina (dois casos), Pancas (um caso) e Vila Valério (um caso). Metade destes casos estava associada a trabalho no campo, enquanto a outra metade estava associada a atividade de lazer (pesca). No caso dos óbitos ocorridos em Colatina, as vítimas estavam distantes de cursos d'água. Entretanto, estavam em contato constante com equinos e bovinos, bem como com o pasto que era circundado por mata fechada. Mesmo assim, não foi possível detecção de positividade nos carrapatos nessa área.

A fragilidade dos serviços de saúde no que diz respeito à retroalimentação positiva do fluxo de informações foi perceptível. A maioria dos pacientes comprovadamente infectados por *R. rickettsii* de acordo com a RIFI (61,54%), equivalente a oito pacientes não havia recebido o laudo laboratorial comprobatório. Apenas cinco deles (38,46%), residentes em Colatina, Baixo Guandu, São Gabriel da Palha, Pancas e São Roque do Canaã, haviam recebido o laudo. Como consequência, em algumas investigações, houve dificuldade no acesso a alguns pacientes, como, por exemplo, em Vila Valério, na localidade do Córrego Dourado, onde não foi possível a realização do inquérito acarológico devido a dois fatores: a descrença na existência da FMB (uma vez que os dois casos, datados de 2011, até o momento do estudo, 2014, não haviam sido informados à família) e descrença nos serviços de saúde (uma vez que, sem autorização, uma equipe com agentes de combate a endemias

entrou na propriedade rural para realizar trabalhos de combate a mosquitos como preconizado no Programa Nacional de Combate à Dengue – PNCD).

O fato supracitado, em termos de educação sanitária, é preocupante, pois, com a descrença tanto nos serviços de saúde quanto na existência da FMB, não é criada de forma coesa algo imprescindível para o sucesso profilático: a corresponsabilidade, ou seja, saber a importância de o porquê realizar o controle de carrapatos tanto no ambiente quanto nos animais, de equipamentos de proteção individual durante incursão em áreas de mata densa e de sinais clínicos sugestivos da doença que justifiquem a procura ao serviço de saúde mais próximo (MOREIRA et al., 2001). Outro ponto que pôde ser observado foi a dificuldade de acesso ao atendimento e falta de conhecimento dos profissionais de saúde para detecção da doença, o que pode determinar ou a subnotificação de casos ou, até mesmo, evolução para o óbito.

Mediante todos os pontos supracitados, é nítido que todos os locais visitados configuram áreas de risco para contato de humanos com carrapatos e, consequentemente, com riquetsias. Associando o baixo quantitativo dos testes laboratoriais com as características das áreas visitadas, a seguinte hipótese pode ser aberta: a participação de outros hospedeiros amplificadores no ciclo da FMB. Ex.: animais silvestres nativos àquelas regiões, locais prováveis de infecção, – pequenos roedores, marsupiais (ex.: *Didelphis aurita*, conhecido como gambá) ou capivaras (SANGIONI, 2003; OLIVEIRA, 2005; HORTA, 2006; LABRUNA, 2009; SZABÓ et al., 2013; NAVA et al., 2014). A capivara – presente em todos os municípios visitados – possui um importante papel na manutenção de populações de carrapatos, seja o *A. sculptum*, seja o *A. dubitatum* ou o *A. aureolatum*. O contato com seres humanos aumenta o risco de infestação acidental, principalmente de acordo com o período do ano (VIEIRA et al., 2004; COSTA et al., 2005; ESTRADA et al., 2006; DEL-FIOL et al., 2010; BRASIL, 2014).

O fato é que torna-se necessário realizar a vigilância dessas áreas. Entretanto, a realização de inquéritos nos mesmos moldes da pesquisa pode levar à descoberta de resultados similares, o que seria destituído de valor para nortear

as ações de controle. Sendo assim, o mais indicado seria inserir no inquérito, tanto sorológico quanto acarológico, hospedeiros amplificadores do ciclo silvestre da FMB (marsupiais, pequenos roedores, capivaras, canídeos silvestres). Além da vigilância ativa dessas áreas, é imprescindível a implantação de um processo permanente de educação em saúde (VIEIRA et al, 2004; BRASIL, 2014). Por exemplo, o esclarecimento da população local sobre aspectos da doença – como transmissão e sinais clínicos –, além de esclarecimento sobre sua sazonalidade e sobre a biologia dos vetores mais envolvidos na transmissão da FMB, poderia minimizar o risco. A falta de conhecimento acerca de determinada enfermidade, principalmente quando se trata de uma doença infectocontagiosa de transmissão indireta, pode favorecer subnotificação de casos aos serviços de saúde ou inobservância de quadros oligossintomáticos que possam ter evolução desfavorável. Pode favorecer também a manutenção do ciclo da doença seja em seu aspecto silvestre, seja em seu aspecto peridomiciliar (COSTA et al., 2005).

Quaisquer ações profiláticas que visem ao controle de carrapatos, tanto em fase parasitária quanto em vida livre, devem ser adotadas de forma conjunta. Entretanto, até mesmo por questões culturais, são esperados resultados imediatos quando executada a aplicação de produtos químicos sobre os animais e, salvo em altas infestações no hospedeiro, o tratamento pontual não exerce impacto algum na população de ixodídeos de vida livre (PINTER *et al.*, 2011; BRASIL, 2014). Vieira et al. (2004) assinalam que o *A. sculptum* possui fases de desenvolvimento bem marcadas durante o ano. Entre os meses de maio e agosto, há prevalência de larvas (eclosão dos ovos); de agosto a novembro, maior prevalência de ninfas (tempo para maturação de larvas para ninfa, em média, de 25 dias); e de dezembro a abril, adultos (a sequência que vai da hematofagia até a reprodução e maturação dos ovos dura, em média, 90 dias). Áreas de pastejo ou terrenos baldios que apresentem vegetação densa, desde que não próximas a áreas de preservação ambiental, podem ter a vegetação capinada rente ao solo ao menos uma vez ao ano, nos meses de verão, inviabilizando a persistência do microclima adequado à fase não parasitária dos carrapatos.

## 8. CONCLUSÕES

Mediante o estudo realizado, foi possível concluir que:

- a) As espécies de carrapatos mais comuns infestando cães e equídeos nos municípios com histórico de casos, coletados diretamente dos hospedeiros nos locais prováveis de infecção, foram *A. dubitatum* (0,41%), *R. microplus* (2,23%), *R. sanguineus* (4,01%), *A. nitens* (20,68%) e *A. sculptum* (72,65%), sendo, esta última, a espécie mais encontrada no decorrer do presente estudo.
- b) Foi possível identificar atividade riquetsial, mesmo que baixa, tanto nos hospedeiros amplificadores (cães: 1,38%; equídeos: 4,63%), quanto nos carrapatos (0,038%, referindo-se apenas a um exemplar da espécie *A. sculptum*). Possivelmente, os baixos resultados podem ser decorrentes à ausência de amplificação do DNA, pela PCR, de outras espécies de riquetsias não investigadas no presente estudo.
- c) A manutenção do ciclo da FMB na região central do Espírito Santo, em grande parte, é possivelmente favorecida por animais silvestres, em especial capivaras, presentes em todos os municípios coletados, inclusive na área controle;
- d) O município de São Domingos do Norte, por mais que tenha sido considerado como área controle no presente estudo, demonstrou positividade sorológica em um dos equídeos coletados (3,84%). Tal resultado não era esperado, o que justifica a realização de novos estudos incluindo o município de São Domingos do Norte como área endêmica.
- e) É necessária a continuidade de pesquisas na região do presente estudo, uma vez que há escassez de informações acerca tanto da ecologia, quanto da epidemiologia da FMB no estado do Espírito Santo.

Entretanto, atenção especial deve ser dada à investigação do ciclo silvestre, bem como, à investigação de outras espécies de riquetsias de importância médica.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.P. **Pesquisa de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia*, *Hepatozoon* e *Leishmania* em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre do estado do Espírito Santo**. São Paulo, 2011. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, 2011.

ANGERAMI, R.N.; MORAIS, E.O.; KATZ, G.; SILVA, L.J. **Brazilian spotted fever in the pediatric age-segment in the State of São Paulo, southeastern Brazil, 2003-2006**. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease, v.15, nº2, pgs. 205-206, December, 2009.

BARBIERI, A.R.M. **Aspectos epidemiológicos da febre maculosa da Mata Atlântica em um foco endêmico do Município de Blumenau, Santa Catarina**. São Paulo, 2012. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, 2012.

BATISTA, F.G.; SILVA, D.M.; GRENN, K.T.; TEZZA, L.B.L.; VASCONCELOS, S.P.; CARVALHO, S.G.S.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B.; FORTES, F.S.; MOLENTO, M.B. **Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v.19, nº4, pgs. 205-209, outubro-dezembro, 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Capítulo 6: Doenças. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 7ª ed. Brasília: Série A. Normas e Materiais Técnicos, 2010. Caderno 12: Febre Maculosa Brasileira, Febre Purpúrica Brasileira, Meningites.

BRITES-NETO, J.; NIERI-BASTOS, F.A.; BRASIL, J.; DUARTE, K.M.R.; MARTINS, T.F.; VERÍSSIMO, C.J.; BARBIERI, A.R.M.; LABRUNA, M.B. **Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian Spotted Fever.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v.22, nº3, pgs.367-372, julho-setembro, 2013.

BROUQUI, P.; PAROLA, P. FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. **Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe.** Federation of European Microbiological Societies. v.49, pgs. 2-12, 2007.

CARDOSO, L.D.; FREITAS, R.N.; MAFRA, C.L.; NEVES, C.V.B.; FIGUEIRA, F.C.B.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H.; GALVÃO, M.A.M. **Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.22, nº33, pgs. 495-501, 2006.

COSTA, P.S.G.; BRIGATTE, M.E.; GRECO, D.B. **Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetti*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.100, pgs. 853-859, December, 2005.

CUNHA, C.N.; FONSECA, A.H.; REZENDE, J. ; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A.R.M.; BARREIRA, J.D.; MASSARD, C.L.; LEMOS, E.R.S. **First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v.29, nº2, pgs. 105-108, fevereiro, 2009.

CHRISTOVA, I.; SCHOULS, L.; van de POL, I.; PARK, J.; PANAYOTOV, S.; LEFTEROVA, V.; KANTARDJIEV, T.; DUMLER, S. **High prevalence of granulocytic ehrlichiae and *Borrelia burgdoferi* sensu lato in *Ixodes ricinus***

**ticks from Bulgaria.** Journal of Clinical Microbiology, v.39, nº11; pgs. 4.172-4.174, November, 2001.

DEL FIOL, F.S.; JUNQUEIRA, F.M.; ROCHA, M.C.P.; TOLEDO, M.I.; FILHO, S.B. **A febre maculosa no Brasil.** Revista Panamericana de Salud Publica, v.27, pgs. 461-466, 2010.

DOBLER, G.; WÖLFEL, R. **Typhus and other rickettsioses.** Deutsches Ärzteblatt International. v.106, nº20. pgs. 348-354, 2009.

Ecobacias. Site: <http://ecobacias.org.br>. Visualizado em 25 de Ago. 2013.

Espírito Santo. Secretaria de Estado da Saúde. **Plano Diretor de Regionalização – PDR**, 2011.

ESTRADA, D.A.; SCHUMAKER, T.T.S.; SOUZA, C.E.; NETO, E.J.R.; LINHARES, A.X. **Rickettsiae detection in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) collected in the urban area of Campinas City, SP.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.39, nº1, pgs. 68-71, janeiro-fevereiro, 2006.

FERREIRA, A.A. **Carrapatos em roedores da região de Franca-SP: avaliação preliminar do potencial de transmissão de doenças infecciosas para população humana.** São Paulo, 2006. Dissertação (Mestrado). Universidade de Franca, SP, 2006.

FIGUEIREDO, L.T.M.; BRADA, S.J.; PEREIRA, E.L.; SZABÓ, M.P.J. **Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man.**



Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.32, nº6, pgs. 613-619, novembro-dezembro, 1999.

GALVÃO, M.A.M.; LAMOUNIER, J.A.; BONOMO, E.; TROPIA, M.S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MACHADO, M.C.; OTONI, M.E.A.; LEITE, R.C.; CARAM, C.; MAFRA, C.L.; WALKER, D.H. **Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.18, nº6, pgs.1593-1597, novembro-dezembro, 2002.

GALVÃO, M.A.M.; SILVA, L.J. **Epidemiologia das riquetsioses do gênero *Rickettsia* no Brasil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.13, nº1, pgs.197-198, 2004.

GALVÃO, M.A.M.; DUMLER, J.S.; MAFRA, C.L.; CHAMONE, C.B.; CESARIANO FILHO, G; OLANO, J.P.; WALKER, D.H.W. **Fatal Spotted Fever Rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil.** Emerging Infectious Disease, v. 9, nº11, November, 2003.

GALVÃO, M.A.M; SILVA, L.J.; NASCIMENTO, E.M.M.; CALIC, S.B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. **Riquetsioses no Brasil e Portugal: Ocorrência, distribuição e diagnóstico.** Revista de Saúde Pública, v.39, nº5, pgs. 850-856, 2005.

GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; ABBOUD-DUTRA, A.E.; AMORIM, M.; BARBOSA, P.R.; ALMEIDA, A.B.; GOMES, V.; GHERKE, F.S.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T.S. **Potential vectors and hosts of *Rickettsia* spp: epidemiological studies in the Vale do Paraíba, state of Rio de Janeiro / Brazil.** European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v.15, nº2, pgs. 269-270, December, 2009.

GEHRKE, F.S.; GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; RIBEIRO, A.; MARRELI, M.T.; SCHUMAKER, D.A. ***Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia sp.* TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro / Brazil.** European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, v. 15, nº2, pgs. 267-268, December, 2009.

GEHRKE, F.S. **Detecção e caracterização molecular de riquetsias em humanos, potenciais vetores e animais domésticos da região Sudeste do Brasil.** São Paulo, 2010. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade Federal de São Paulo, SP, 2010.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, S.A.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S.M.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T.T.S.; WALKER, D.H. **Prevalence of antibodies to spotted fever group *Rickettsiae* in humans and domestic animals in a brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*.** The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, v.7, nº1, pgs. 93–97, 2004.

HORTA, M.G. **Estudo epidemiológico de *Rickettsia felis* em áreas endêmicas e não-endêmicas para febre maculosa no estado de São Paulo.** São Paulo, 2006. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Paulo, SP, 2006.

LABRUNA, M. B. **Ecology of *Rickettsia* in South America.** Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci., nº1.166, pgs.156–166, 2009.

LABRUNA, M.B.; MATTAR V, S.; NAVA, S.; BERMUDEZ, S.; VENZAL, J.M.; DOLZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J. **Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal**. Revista científica de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Córdoba, v.16. nº2, pgs.2.435-2.457, Mayo, 2011.

LEMO, E.R.S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A.A.; CHAGAS, N. **Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Serological survey of dogs and horses in an endemic area in the state of São Paulo, Brazil**. Revista do Instituto de Medicina Tropical, São Paulo, v.38, nº6, pgs. 427-430, novembro-dezembro, 1996.

LEMO, E.R.S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A.A.; SERRA-FREIRA, N.M.; AMORIM, M.; GAZETA, G.S. **Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, São Paulo, v.30, nº3, pgs. 181-185, maio-junho, 1997.

MACALUSO, K.R.; MULENGA, A.; SIMSER, J.A.; AZAD, A.F. **Differential expression of genes in uninfected and *Rickettsia*-infected *Dermacentor variabilis* ticks as assessed by differential-display PCR**. Infection and Immunity, v.71, nº11, 6165-6170, November, 2003.

MAIA, N.L. **Identificação e caracterização de bioagentes da iridemia *Rickettsiales* veiculados por carrapatos e pulgas em animais recebidos no centro de triagem de animais silvestres (CETAS) da Universidade Federal de Viçosa, estado de Minas Gerais**. Minas Gerais, 2012. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa (MG), 2012.

MEDIANNIKOV, O.; ABDISSA, A.; DIATTA, G.; TRAPE, J.; RAOULT, D. ***Rickettsia felis* in fleas, Southern Ethiopia, 2010.** Emerging Infectious Disease. v.18, nº8, August, 2012.

MOREIRA, A.C.H.M.P.; SILVA, A.M.B.; LOPES, A.; GUIARD, C.L.M.P.; BERRO, E.; METELLO, H.N.; COLOMBANI, L.B.; SANCHES, M.A.P.; DINIZ, M.L.B.; CONCEIÇÃO, M.P.C.; BIZETTO, M.S.F.; OLIVEIRA, M.; GONÇALVES, O.S.J.; COUTINHO, R.P.M.; NOGUEIRA, W.; LESSA, Z.L. **Educação em saúde: Planejando as ações educativas – Teoria e prática.** Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, 2001.

NAVA, S. BEATI, L.; LABRUNA, M.B.; CÁCERES, A.G.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. **Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844), and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae).** Ticks and Tick-borne Diseases, v.5, nº3, pgs. 252-276, April, 2014.

NIEBYLSCHI, M.L.; PEACOCK, M.G.; SCHWAN, T.G. **Lethal Effect of *Rickettsia rickettsii* on Its Tick Vector (*Dermacentor andersoni*).** Applied and Environmental Microbiology. v. 65, nº2, pgs. 773-778, February, 1999.

OLIVEIRA, R.P.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L.; CHAMONE, C.B.; CALIC, S.B.; SILVA, S.U.; WALKER, D.H. ***Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. Fleas, Brazil.** Emerging Infectious Diseases, v. 8, nº3, March, 2002.

OLIVEIRA, K.A. **Investigação molecular de organismos da ordem Rickettsiales em ectoparasitos de animais de área endêmica para a Febre**

**Maculosa Brasileira.** Minas Gerais, 2005. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa (MG), 2005.

OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.A.; SILVA JR, A.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L. **Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from na endemic area for Brazilian Spotted Fever.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.103, nº2, pgs. 191-194, March, 2008.

PAROLA, P.; INOKUMA, H.; CAMICAS, J.; BROUQUI, P.; RAOULT, D. **Dettection and identification of spotted fever group *Rickettsiae* and *Erlichiae* in african ticks.** Emerging Infectious Disease. v.7, nº6, November-December, 2001.

PINTER, A. **Aspectos epidemiológicos da Febre Maculosa Brasileira em um foco endêmico no estado de São Paulo.** São Paulo, 2007. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, 2007.

PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. **Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian Spotted Fever in the state of São Paulo, Brazil.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v.24, nº2, pgs. 247-252, fevereiro, 2008.

PINTER, A.; FRANÇA, A.C.; SOUZA, C.E.; SABBO, C.; NASCIMENTO, E.M.M.; SANTOS, F.C.P.; KATZ, G.; LABRUNA, M.B.; HOLCMAN, M.M.; ALVES, M.J.C.; HORTA, M.C.; MASCHERETTI, M.; MAYO, R.C.; ANGERAMI, R.N.; BRASIL, R.A.; LEITE, R.M.; SOUZA, S.S.A.L.; COLOMBO, S. OLIVEIRA, V.L.M. **Febre Maculosa Brasileira.** Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, 2011.

PIRANDA, E.M.; FACCINI, J.L.H.; PINTER, A.; SAITO, T.B.; PACHECO, R.C.; HAGIWARA, M.K.; LABRUNA, M.B. **Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.103, nº7, pgs. 696-701, novembro, 2008.

RASHID, R.; PASQUALOTTO, A.C.; DENNING, D.W. **A case of spotted fever group rickettsioses imported into the United Kingdom and treated with ciprofloxacin: a case report.** Journal of Medical Case Reports, v.2, nº 98, pgs. 1-3, 2008.

ROMER, Y.; SEIJO, A.C.; CRUDO, F.; NICHOLSON, W.L.; VARELA-STOKES, A.; LASH, R.R.; PADDOCK, C.D. ***Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Argentina.** Emerging Infectious Diseases, v.17, nº7, pgs. 1169-1173, July, 2011.

ROUX, V.; RYDKINA, E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. **Citrate syntetase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae.** International Journal of Systematic Bacteriology. v.47, nº2, pgs. 252-261, April, 1997.

ROVERY, C.; RAOULT, D. **Mediterranean Spotted Fever.** Infectious Disease Clinics of North America, v.22, pgs.515-530, 2008.

SANGIONI, L.A. **Pesquisa por infecção de riquetsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães, equídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não-endêmica do estado de São Paulo.** São Paulo, 2003. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, 2003.

SARAIVA, D.G. **Tempo mínimo de parasitismo de carrapatos *Amblyomma aureolatum* infectados, para que ocorra a transmissão de *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa brasileira, para hospedeiros vertebrados.** São Paulo, 2012. Tese (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, SP, 2012.

SCHOELER, G.B.; MORÓN, C.; RICHARDS, A.; BLAIR, P.J.; OLSON, J.G. **Human spotted fever rickettsial infections.** Emerging Infectious Diseases, v.11, nº4, pgs. 622-624, April, 2005.

SEXTON, D.J.; MUNIZ, M.; COREY, G.R.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; DUMLER, S.; WALKER, D.H.; PEÇANHA, P.M.; DIETZE, R. **Brazilian Spotted Fever in Espírito Santo, Brazil: Description of a focus of infection in a new endemic region.** The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, v.49, nº2, pgs. 222-226, 1993.

SOCOLOVSKI, C; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. **The relationship between spotted fever group *Rickettsiae* and Ixodid ticks.** Veterinary Research, v.40, pgs. 2-20, 2009.

SOUZA, S.S.A.L.; SOUZA, C.E.; NETO, E.J.R.; PRADO, A.P. **Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para Febre Maculosa na região de campinas, São Paulo, Brasil.** Ciência Rural, Santa Maria, v.36, nº3, pgs. 887-891, maio-junho, 2006.

SPOLIDORIO, M.G. **Perfil sorológico e molecular de zoonoses transmitidas por carrapatos em humanos e animais domésticos oriundos de seis municípios do Estado do Espírito Santo.** São Paulo, 2009. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, SP, 2009.

SPOLIDORIO, M.G.; MINERVINO, A.H.H.; VALADAS, S.Y.O.B.; SOARES, H.S.; NEVES, K.A.L.; LABRUNA, M.B.; RIBEIRO, M.F.B.; GENNARI, S.M. **Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v.22. nº2, pgs. 214-219, abril-junho, 2013.

SZABÓ, M.P.J.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; **Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v.3, nº27, pgs.1-9, July, 2013.

TAMEKUNI, K.; TOLEDO, R.S.; FILHO, M.F.S.; HAYDU, V.B.; PACHECO, R.C.; CAVICCHIOLI, J.H.; LABRUNA, M.B.; DUMLER, J.S.; VIDOTTO, O. **Serosurvey of antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp. in horse farms in Northern Paraná, Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia, Jaboticabal, v.19, nº4, pgs. 259-261, outubro-dezembro, 2010.

TREADWELL, T.A.; HOLMAN, R.C.; CLARKE, M.J.; KREBS, J.W.; PADDOK, C.D.; CHILDS, J.E. **Rocky Mountain Spotted Fever in the United States 1993-1996.** The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, nº.63, pgs. 21-26, 2000.

VIEIRA, A.M.L.; SOUZA, C.E.; LABRUNA, M.B.; MAYO, R.C.; SOUZA, S.S.L.; CAMARGO-NEVES, V.L.F. **Manual de Vigilância Acarológica.** Governo do Estado de São Paulo. São Paulo, 2004.

WHALBERG, P.; NYMAN, D. **Prevention of tick-borne diseases: The need for a revised strategy.** Vector Borne and Zoonotic Diseases, v.1, nº4, pgs. 251-252, 2001.

ZAVALA-CASTRO, J.E.; WALKER, D.H.; ARCILA, E.E.R.; LAVIADA-MOLINA, H.; OLANO, J.P.; RUIZ-SOSA, J.A.; SMALL, M.A.; DZUL-ROSADO, K.R.



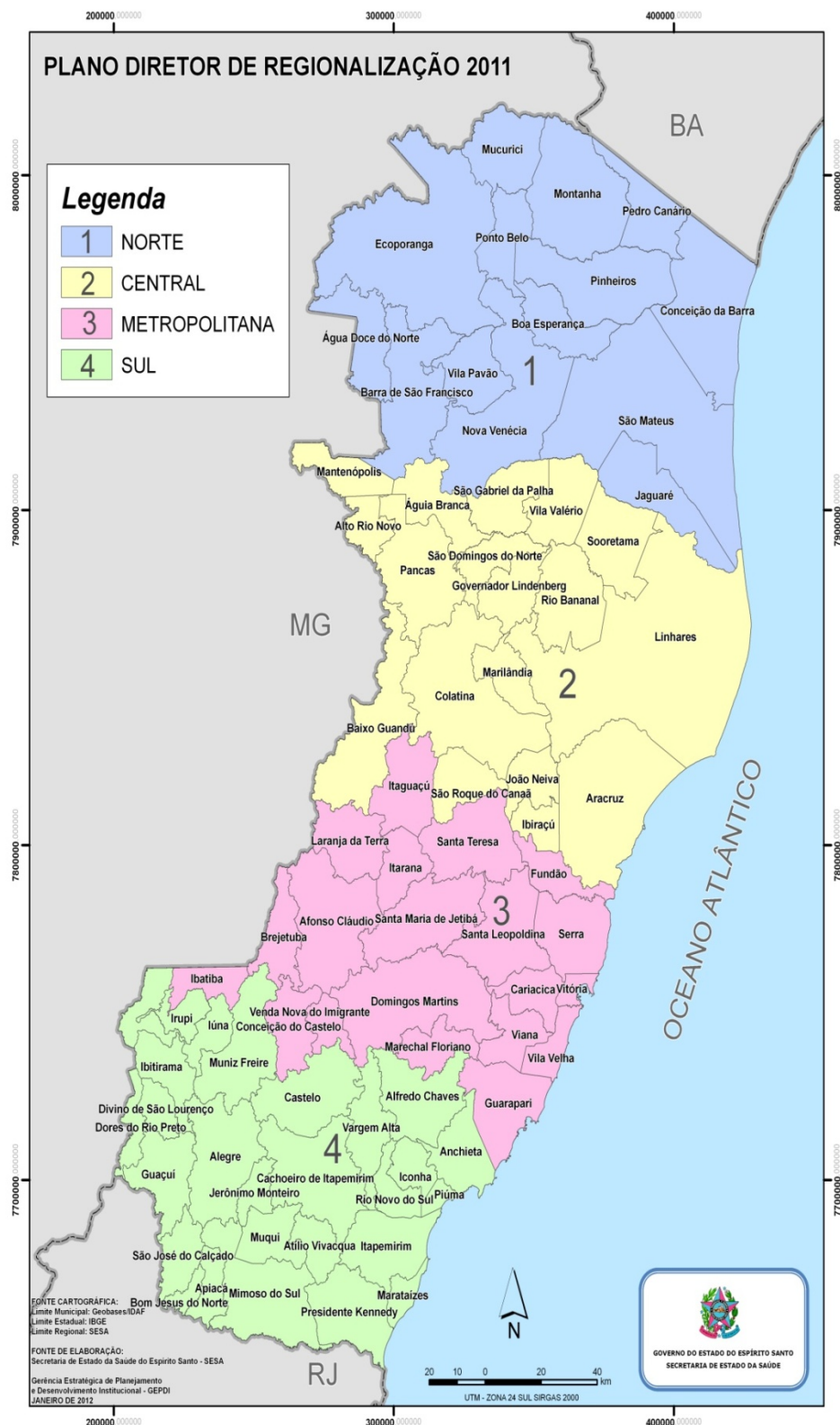
**Infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico.** Emerging Infectious Diseases, v.12, nº4, pgs. 672-675, 2006.

ZAVALA-VELAZQUEZ, J.E.; YU, J.X.; WALKER, D.H. **Unrecognized spotted fever group rickettsiosis masquerading as dengue fever in Mexico.** The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, nº55, pgs. 157-159, 1996.

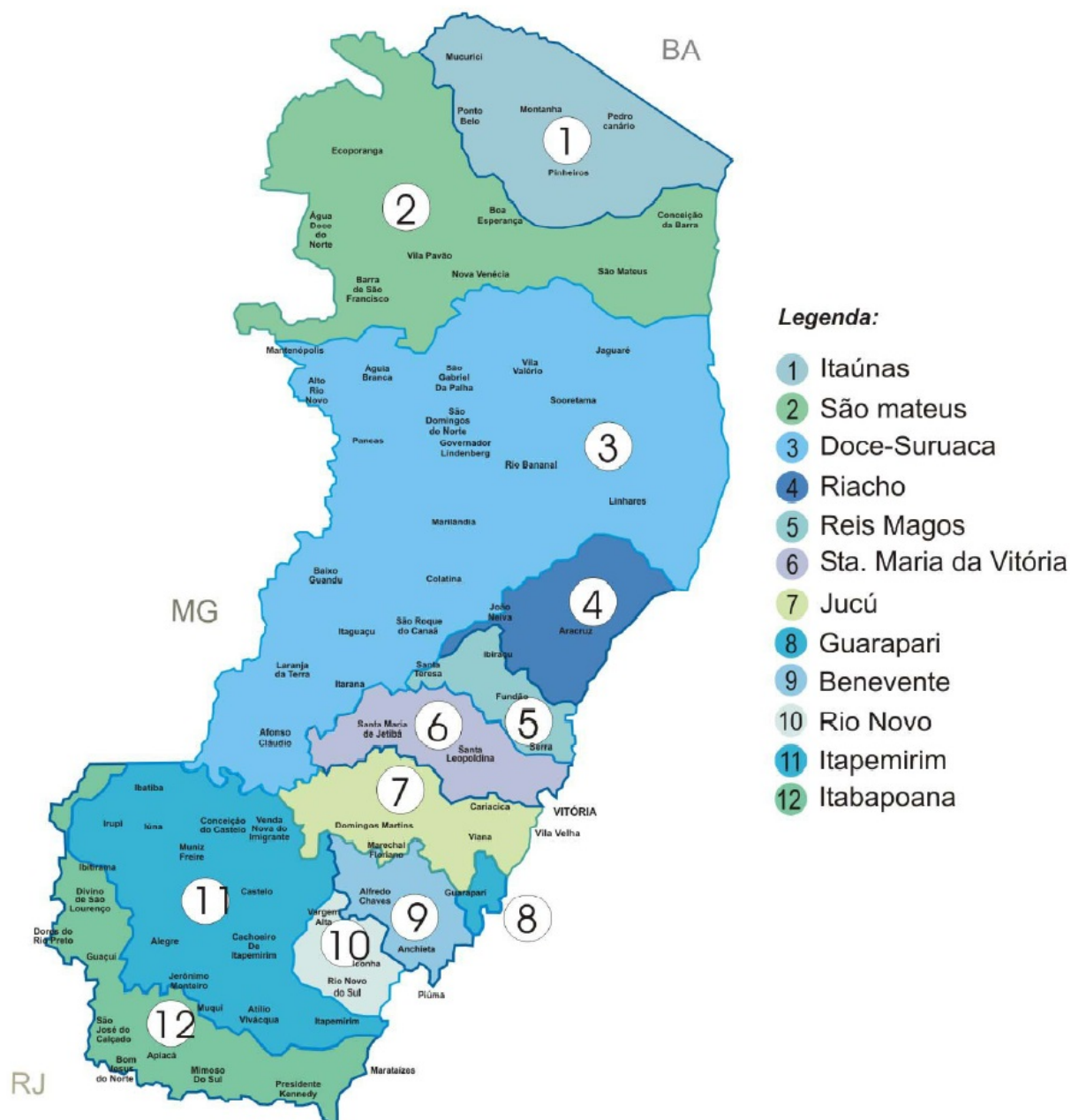
## ANEXOS



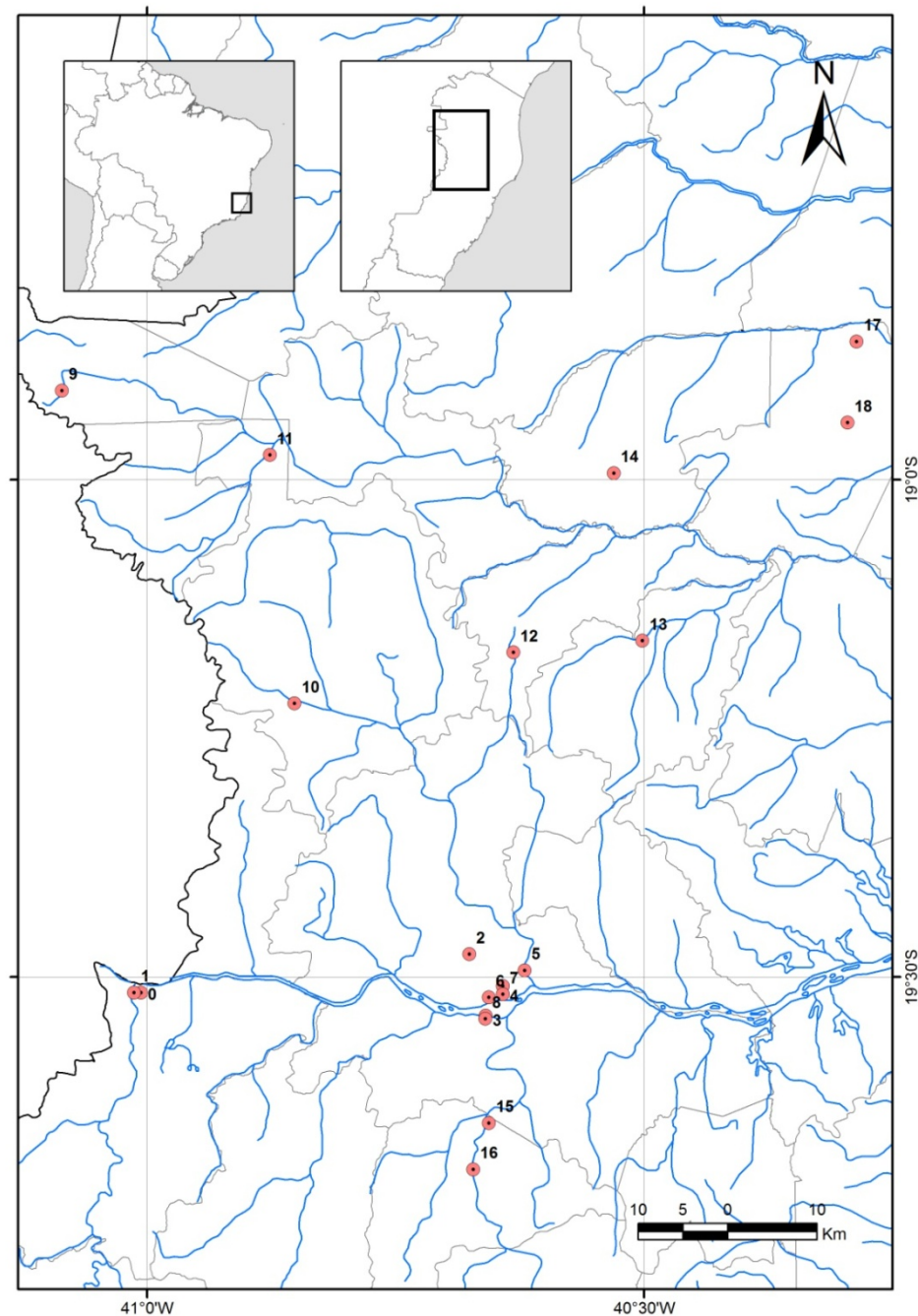
**Figura 1.** Adaptado de Nava et al. (2014). No mapa, é possível observar a distribuição do Complexo *Amblyomma cajennense* desde a América do Sul, até a América do Norte. \**Amblyomma cajennense sensu stricto*; †*Amblyomma tonelliae* n. sp.; ⌘*Amblyomma interandinum* n. sp.; #*Amblyomma patinoi* n. sp.; ■*Amblyomma mixtum*; ○*Amblyomma sculptum*.



**Figura 2.** Mapa do Espírito Santo, de acordo com o Plano Diretor de Regionalização (ESPÍRITO SANTO, 2011).



**Figura 3.** Mapa Hidrográfico do Espírito Santo (Fonte: <http://www.ecobacias.org>. Visualizado em 25 de Ago. 2013).



**Figura 4.** Extensão da área de pesquisa. Ao todo, foram 19 pontos de coleta (Baixo Guandu: dois; Colatina: sete; Mantenópolis: um; Pancas: dois; São Domingos do Norte: dois; São Gabriel da Palha: um; São Roque do Canaã: dois; Vila Valério: dois). Cada um desses pontos relaciona-se a locais prováveis de infecção (LPI), com exceção de São Domingos do Norte (área-controle).





**Figura 5.** Coleta de carrapatos em equídeo. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 6.** Aspecto do LPI de um paciente positivo para FMB em Colatina. Note o excesso de vegetação no terreno baldio, criando assim, microclima adequado para fase não-parasitária de carrapatos. Ainda, a presença de hospedeiros amplificadores no local (equídeo na seta) possibilita tanto a manutenção de carrapatos, quanto a dispersão. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).





**Figura 7.** Aspecto do LPI próximo ao domicílio de um paciente positivo para FMB em Vila Valério (Córrego Areia). Há relato da presença de capivaras. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 8.** Aspecto do LPI onde uma criança foi diagnosticada com FMB em Mantenópolis. A presença de capivaras era intensa, principalmente nas proximidades da lavoura de café. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).





**Figura 9.** Aspecto do local provável de infecção em São Gabriel da Palha. No pasto, próximo ao bambuzal (seta), a área é alagadiça. São criados equídeos e bovinos, além do relato de capivaras. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 10.** Aspecto de uma área próxima a um LPI, no município de São Roque do Canaã. A atividade de capivaras era intensa. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).





**Figura 11.** Local frequentado por equídeos em São Domingos do Norte. A atividade de capivaras na região era visível. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 12.** Trilha deixada por capivaras até o lago. Note a presença de fezes frescas de capivaras (seta). (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).





**Figura 13.** Comunidade de carroceiros no município de Baixo Gandu. (Foto: Gabriel Nunes de Sales).



**Figura 14.** Atividade intensa de larvas em fase não parasitária de *Amblyomma* sp. (seta) durante coleta no município de São Domingos do Norte. A área localizava-se próximo ao lago freqüentado por equídeos e capivaras (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).





**Figura 15.** Larvas de *Amblyomma* sp. durante coleta em LPI no município de Mantenópolis. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 16.** Fêmea de *Amblyomma sculptum* coletada em São Domingos do Norte. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).



**Figura 17.** Criadouro construído às margens do rio Guandu, em Baixo Guandu, para manejo de capivaras. (Foto: Gabriel Nunes de Sales Correa).